

Научная статья/Research Article

УДК 619: 616.98 : 579.852.13:636.2.034

DOI: 10.36718/1819-4036-2023-11-244-250

Алмаз Агиянович Башаров<sup>1</sup>, Фидаиль Фанильевич Юзлекбаев<sup>2</sup>, Идрис Фидаевич Юмагузин<sup>3</sup>✉

<sup>1</sup>Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, Республика Башкортостан, Россия

<sup>2</sup>Башкирская научно-производственная ветеринарная лаборатория, Уфа, Республика Башкортостан, Россия

<sup>3</sup>Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение УФИЦ РАН, Уфа, Республика Башкортостан, Россия

1,2,3:jumagusin@mail.ru

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН И ДЕЗИНФЕКТАНТОВ ПРОТИВ КЛОСТРИДИОЗА КОРОВ НА МОЛОЧНЫХ КОМПЛЕКСАХ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Цель исследования – оценка профилактической эффективности применения современных ветеринарных вакцин («Ван Шот Ультра 8», «ТОКСИГРА Плюс», «Коглавакс» и «Пастанарм 8») и дезинфицирующего средства «Форбицида» в сравнении с перекисью водорода против клостридиозов молочных коров, проводимых в условиях крупных молочных комплексов Республики Башкортостан. Анализы биоматериала (внутренних органов и сыворотки крови) коров проводились на испытательном центре ГБУ «Башкирской научно-производственной ветеринарной лаборатории» с соблюдением регламентированных методик и по утвержденным нормативным документам – международным стандартам (ГОСТ) и техническим условиям (ТУ). На основании проведенных лабораторных испытаний можно сделать заключение, что без объективной идентификации видовой принадлежности анаэробных бактерий клостридий бесконтрольная вакцинация скота не обеспечивает необходимый уровень защиты организма молочного скота от данного заболевания. Согласно полученным микроскопическим исследованиям патологических материалов, наиболее часто встречаемыми культурами клеток клостридий являются виды перфрингенс (*S. perfringens*) и шово (*S. chauvoei*), последний из которых является возбудителем эмкара скота. В этой связи для поддержания необходимого уровня специфической защиты иммунитета коров остается ежемесячный контроль антител на токсины, уровень которых должно быть не менее 40 % ингибирования. Тем не менее высокая эффективность специфической профилактики клостридиозов не достигается ни одной из перечисленных вакцин, что требует обязательного контроля уровня ингибирования антител в сыворотке крови на идентифицированные виды клостридий и внедрение жесткой санитарной обработки мест пребывания скота дезинфицирующими растворами. Применение 10 %-го раствора «Форбицида» либо 6 %-й перекиси водорода с экспозицией 24 и 3 ч соответственно обеспечивает 100 % гибель патогенных бактерий 3–4-й группы.

**Ключевые слова:** клостридиоз, молочный скот, вакцина, дезинфицирующие растворы, ИФА-анализ, биологическая проба

**Для цитирования:** Башаров А.А., Юзлекбаев Ф.Ф., Юмагузин И.Ф. Оценка эффективности вакцин и дезинфектантов против клостридиоза коров на молочных комплексах Республики Башкортостан // Вестник КрасГАУ. 2023. № 11. С. 244–250. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-11-244-250.

Almaz Agiyanovich Basharov<sup>1</sup>, Fidail Familievich Yuzlekbayev<sup>2</sup>, Idris Fidaevich Yumaguzin<sup>3</sup>✉

<sup>1</sup>Bashkir State Agrarian University, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

<sup>2</sup>Bashkir Research and Production Veterinary Laboratory, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

<sup>3</sup>Bashkir Scientific Research Institute of Agriculture - a separate structural unit of the Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

<sup>1,2,3</sup>jumaguzin@mail.ru

## EFFECTIVENESS ASSESSMENT OF VACCINES AND DISINFECTANTS AGAINST COW CLOSTRIDIOSIS AT THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN DAIRY COMPLEXES

*The purpose of the study is to evaluate the preventive effectiveness of the use of modern veterinary vaccines (One Shot Ultra 8, TOXIPRA Plus, Koglavax and Pastanarm 8) and the disinfectant Forbicida in comparison with hydrogen peroxide against clostridiosis of dairy cows, carried out in conditions of large dairy complexes of the Republic of Bashkortostan. Analyzes of biomaterial (internal organs and blood serum) of cows were carried out at the testing center of the State Budgetary Institution "Bashkir Research and Production Veterinary Laboratory" in compliance with regulated methods and in accordance with approved regulatory documents – international standards (GOST) and technical specifications (TU). Based on the laboratory tests carried out, we can conclude that without objective identification of the species of anaerobic bacteria clostridia, uncontrolled vaccination of livestock does not provide the necessary level of protection of the body of dairy cattle from this disease. According to the obtained microscopic studies of pathological materials, the most common cultures of clostridia cells are the species of perfringens (*C. perfringens*) and chauvoei (*C. chauvoei*), the latter of which is the causative agent of livestock emkara. In this regard, to maintain the required level of specific immunity protection of cows, monthly monitoring of antibodies to toxins remains, the level of which should be at least 40 % inhibition. However, the high effectiveness of specific prevention of clostridia is not achieved by any of the listed vaccines, which requires mandatory monitoring of the level of inhibition of antibodies in blood serum to identified types of clostridia and the introduction of strict sanitary treatment of livestock areas with disinfectant solutions. The use of a 10 % solution of Forbicida or 6 % hydrogen peroxide with an exposure of 24 and 3 hours, respectively, ensures 100 % death of pathogenic bacteria of the 3rd–4th group.*

**Keywords:** clostridiosis, dairy cattle, vaccine, disinfectant solutions, ELISA analysis, biological test

**For citation:** Basharov A.A., Yuzlekbayev F.F., Yumaguzin I.F. Effectiveness assessment of vaccines and disinfectants against cow clostridiosis at the Republic of Bashkortostan dairy complexes // Bulliten KrasSAU. 2023;(11): 244–250. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-11-244-250.

**Введение.** Одним из наиболее часто встречаемых заболеваний кормового характера продуктивного крупного рогатого скота являются отравления бактериального и грибкового происхождения, возникающие в основном из-за несоблюдения обязательных санитарно-гигиенических условий заготовки, хранения и скармливания кормов. Данные отравления наносят серьезный ущерб здоровью и экономике производства продукции молочного скота.

Так, в последнее время в условиях крупных молочных комплексов Республики Башкортостан участились случаи заражения скота бактериальной инфекцией, связанные с клостридиями. Данные заболевания для ветеринарных врачей многих хозяйств является новым и не-

понятным бичом, так как ранее отечественное животноводство не сталкивалось с этой насущной проблемой. Клостридиозы жвачных включают в себя целую группу заболеваний различного характера с пестрой симптоматикой и клинической картиной.

На сегодняшний день наукой установлено и описано около 150 видов клостридий, из которых 35 видов являются патогенными. Последние виды клостридий в условиях неблагоприятных для их жизни, становятся патогенными и вызывают тяжелые заболевания со смертельным исходом.

Как показывает практика, лечение животных от клостридиоза – дело неблагодарное. И, как правило, что в медицине (столбняк, ботулизм),

что в ветеринарии (эмкар) заболевания, вызванные данными видами бактерий, почти не лечатся и в результате заканчиваются летально. Поэтому на первый план выходят понимание эпизоотологии данного заболевания и профилактики. Это намного эффективнее и рентабельнее, чем лечение этого недуга. Все виды патогенных клостридий вырабатывают токсины. При этом сапрофитные клостридии, которые не вызывают никаких заболеваний, всегда присутствуют в организме человека и животных [1–4].

При длительном воздействии на сапрофитные клостридии щелочи, кислот, детергентов в не превышающей летальной для них концентрации они переходят в разряд патогенных и вызывают заболевания и смерть скота. Для активации патогенных клостридий в организме животных необходим пусковой фактор – внутрикишечные паразиты (гельминты, кокцидии, криптоспоридии) [5].

В медицине наиболее широко изучен вид клостридия – *Clostridioides difficile* (диффициле), а в ветеринарии – *Clostridium perfringens* (перфрингенс). Остальные виды клостридий диагностировать и идентифицировать в нынешних условиях отечественных лабораторий нет возможности [1]. Из восьми патогенных клостридий для идентификации в медицине на сегодняшний день имеются сыворотки только для трех видов, а в ветеринарии – на другие три вида бактерий.

В целях профилактики клостридиозов жвачных в основном ветеринарные специалисты хозяйств применяют традиционные способы борьбы – вакцинация и санитарные обработки стойл животных. Однако эффективность действия данных мероприятий не всегда проверена и подтверждена лабораторными и клиническими исследованиями. И в этой связи возникает необходимость выяснения эффективных мер защиты скота от клостридиозов и в целом результативности применяемых вакцин и дезинфектантов.

**Цель исследования** – оценка результативности профилактики клостридиозов молочных коров при применении вакцин 4 производителей и средств обработки помещений – «Форбицида» и перекиси водорода в молочно-товарных хозяйствах Республики Башкортостан.

**Задачи:** определить видовую принадлежность бактерий клостридий, выделенных из патологического материала скота; установить им-

муностимулирующий эффект при применении исследуемых вакцин на начальной стадии развития клостридиозов на молочных коровах; выявить эффективную концентрацию и длительность обработки дезинфицирующих растворов «Форбицида» и перекиси водорода против бактерий клостридий.

**Материал и методы.** Для определения иммунной защиты коров от клостридиоза были отобраны следующие виды вакцин: «Ван Шот Ультра 8» («Файзер», США), «ТОКСИПРА Плюс» («Лабораториос Хипра С.А.» Испания), «Коглавакс» («Сева-Филаксия Ветеринари Биоджикалз Компани», Венгрия) и «Пастанарм 8» («Армавирская биофабрика ФКП», Краснодарский край, Россия). Вакцинация указанными препаратами проводилась с 2-кратной повторностью с интервалом 3 недели, и на 21-й день после введения второй дозы вакцины были взяты образцы венозной крови от 3 коров из каждой подопытной группы.

Лабораторные исследования биоматериала подопытных коров были проведены в условиях испытательного центра ГБУ «Башкирская научно-производственная ветеринарная лаборатория», где осуществляли бактериологические анализы на идентификацию клостридий в патологических материалах (внутренние органы: печень, почки, отделы кишечника, легкие, селезенка, сердце, лимфатические узлы).

Для культивирования бактерий клостридий применялась среда Китта-Тароци, идентификация проводилась после окрашивания по Граму путем микроскопирования на бинокулярном микроскопе Olympus CX21FS1 с кратностью увеличения 2000 раз [6].

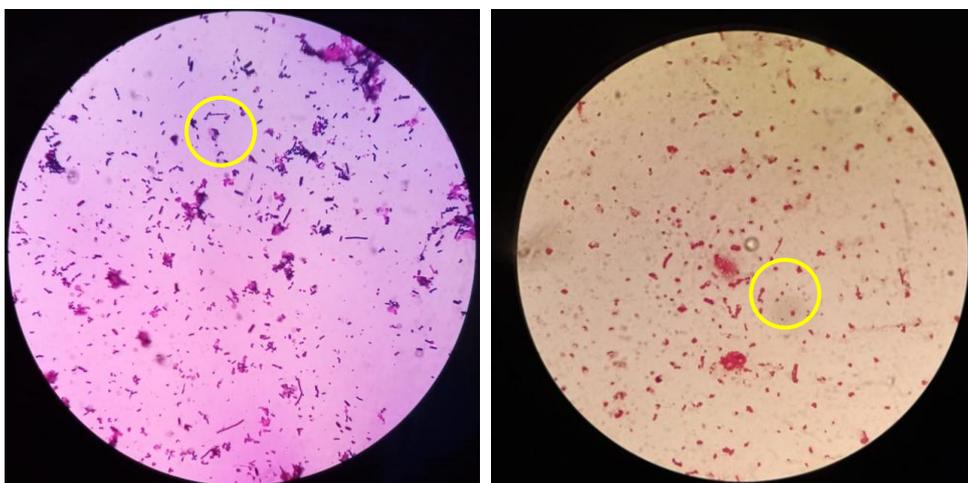
Для установления результативности действия вакцин были проведены исследования биопробой на лабораторных животных (морских свинках) и определены соотношения титра антител сыворотки крови и антигена на альфа-, бета- и эпсилон-токсины клостридии перфрингенс. Анализ содержания указанных токсинов в образцах осуществляли иммуноферментным методом на автоматическом иммуноферментном микропланшетном анализаторе Infinite F50, с использованием тест-набора для диагностики клостридий перфрингенс (*C. Perfringens*) производства Bio-X Diagnostics. Данный иммуноферментный анализ определения соотношения тит-

ра антител и определенных антигенов – это разновидность серологического исследования, так как включает в себя традиционный принцип – антитело-антиген, что на сегодняшний день является современным быстроразвивающимся перспективным методом диагностики.

**Результаты и их обсуждение.** При осмотре клинического состояния дойных коров на молочном комплексе хозяйства нами не было выявлено явных признаков проявления изменений при заражении животных клостридиями. В группах коров, где наблюдались резкие изменения в клиническом состоянии здоровья животных, как правило, всегда наступала смерть в течение 10–12 ч. При этом никакая интенсивная терапия

не помогала. При исследовании соотношения титра антител сыворотки крови и антигена больных коров иммуноферментным методом указывало на хроническую инфицированность поголовья клостридиозной инфекцией, которая обычно составляет 95 % по эпсилон-токсину.

По результатам бактериологического анализа и микроскопии патологического материала коров одного из хозяйств были обнаружены два различаемых вида клостридий. Были идентифицированы культуры клеток клостридии вида *C. chauvoei*, которые выглядели в виде вытянутых палочек с закругленными концами с субтерминальными спорами (рис.).



*Клостридии вида Clostridioides chauvoei, выделенные из патологического материала коров*

Второго представителя культуры клеток клостридий не получилось достоверно идентифицировать, но предположительно его можно отнести к виду перфрингенс (*C. perfringens*).

Последующие исследования по установлению результативности действия вакцин на сти-

мулирование иммунной защиты были связаны с анализами сыворотки крови коров. Результаты усредненных соотношений антител и антигена из каждой вакцинированной группы коров на выделяемые токсины клостридий вида перфрингенс представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Сравнительный анализ титров антител крови подопытных коров при использовании вакцин разных производителей**

Вакцина (группа)	Усредненные данные соотношения антител и антигена на токсины <i>C. perfringens</i> , %		
	Альфа-токсин	Бета-токсин	Эпсилон-токсин
Ван Шот Ультра-8	13 (нет антител)	37 (есть антитела)	18 (нет антител)
ТОКСИПРА Плюс	47 (есть антитела)	38 (есть антитела)	88 (есть антител)
Коглавакс	95 (есть антитела)	94 (есть антитела)	92 (есть антитела)
Пастанарм-8	69 (есть антитела)	38 (есть антитела)	88 (есть антитела)

По результатам лабораторного анализа сыворотки крови было сделано следующее заключение, что использование вакцин разных производителей способствовало выработке антител коров избирательно к конкретному виду кластридий. Согласно данным ИФА-анализа наилучшую иммуностимулирующую защиту против кластридий перфрингенс обеспечивали вакцины под названием «Коглавакс» и «Пастанарм-8». При этом применение вакцины «Ван Шот Ультра-8» не создавало необходимого уровня защиты, о чем свидетельствуют значения титра антител альфа- и эпсилон-токсинов, которые были ниже 20 % ингибирования. В группе коров, которые были вакцинированы «ТОКСИПРА Плюс», антитела в большей степени выработались только к эпсилон-токсину, тогда как уровень антител против альфа- и бета-токсинов был на минимально пороговом значении.

Дальнейшие наблюдения за клиническим состоянием коров показали, что несмотря на поголовную вакцинацию животных случаи падежа от кластридиозов продолжались во всех исследуемых группах. В этой связи было проведено дополнительное исследование – биологическая проба на морских свинках.

После заражения морских свинок культурой кластридий, выращенных из патологического материала, дополнительно были введены сыворотки крови коров с исследуемыми вакцинами. В результате проведенного анализа на биопробу через 1 сут было установлено, что введе-

ние сыворотки крови от вакцины «ТОКСИПРА плюс» обеспечила 100 % выживаемость морских свинок. У остальных вариантов вакцинированные морские свинки пали от имеющейся инфекции патологического материала.

Таким образом, данный опыт указывает, что требуемую специфическую защиту от кластридий, обнаруженных в условиях исследуемого хозяйства, могла обеспечить только вакцина «ТОКСИПРА плюс». Но следует отметить тот факт, что снижение соотношения титра антител и антигену ниже 40 % против учитываемых токсинов приводило к гибели коров, несмотря на то, что животные были вакцинированы «ТОКСИПРА плюс».

В связи с низкой эффективностью лечебных мероприятий от кластридиозов поиск эффективных профилактических мер и средств от данных заболеваний стал необходимостью.

Для установления антибактериального действия дезинфицирующего средства «Форбицида» и раствора перекиси водорода были проведены санитарные обработки стойл и кормового стола коровника. В результате неоднократных исследований было установлено, что рост кластридий прекращается только при орошении «Форбицидом» с концентрацией 10 % и экспозиции 24 ч.

Результаты исследования водного раствора «Форбицида» разной концентрации и экспозиции на рост кластридий представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Результаты обработки стойл и кормового стола дезинфицирующим средством «Форбицида» на обсемененность кластридиями**

Концентрация «Форбицида» в воде, %	Время выдержки (экспозиция), мин	Результат применения
1	60	Установлен рост колоний кластридий
	180	
2	60	
	180	
3	60	
	180	
5	60	
	180	
10	60	
	180	
	24 ч	Рост колоний отсутствует

В результате проведенных исследований было установлено, что влияние растворов «Форбицида» на угнетение жизнедеятельности клостридий достигалось только при концентрации 10 % и при длительности экспозиции 24 ч из расчета 0,5 л/м<sup>2</sup>. В остальных случаях применение данного средства с концентрацией от 1 до 10 % в течение 1–3 ч не способствовало гибели культур клеток клостридий, тем самым не создавало необходимого уровня защиты от данного заболевания животных. При этом следует указать, что применение дезинфицирующего средства «Форбицида» в концентрации 10 % при контакте с животными вызывает аллергию, поэтому необходимо через сутки смыть данный дезинфицирующий раствор водой либо обязательно дождаться высыхания контактируемой поверхности.

Альтернативным решением с целью замены данного дезинфицирующего средства было применение растворов перекиси водорода с концентрацией от 1 до 6 % и экспозицией от 30 до 120 мин. Данные растворы также применялись после тщательной мойки мест пребывания коров, а также поверхности кормового стола из расчета 0,5 л/м<sup>2</sup>. Согласно анализам бактериальной обсемененности образцов, отобранных с поверхности стойл и кормового стола, было сделано заключение, что концентрация перекиси водорода до 5 % не оказывала бактерицидного влияния на 3-ю и 4-ю группу бактерий, в т. ч. и на клостридий. Эффективной концентрацией раствора перекиси водорода против клостридий явилась концентрация 6 % с экспозицией 180 мин. При меньших концентрациях и экспозиции наблюдался рост клостридий.

**Заключение.** Обобщая результаты исследований, следует заключить, что профилактика клостридиозов молочного скота на сегодняшний день остается открытой и острой проблемой, которая требует особого внимания по недопущению и развитию данной болезни у животных. Эффективность борьбы с данной болезнью во многом определяется своевременностью и достоверностью проведения лабораторных исследований по идентификации видовой принадлежности клостридий. В условиях молочных комплексов по результатам лабораторных анализов патологического материала молочного скота было выявлено и неоднократно подтвер-

ждено наличие бактерии клостридии видов *C. perfringens* и *C. chauvoei*.

Согласно данным ИФА-анализа сыворотки крови подопытных коров, высокую иммуностимулирующую защиту против клостридий *C. perfringens* проявила вакцина «Коглавакс». Однако в исследуемом хозяйстве наилучший профилактический эффект был установлен при введении вакцины «ТОКСИПРА Плюс» дойным коровам с двукратной повторностью с интервалом 21 день в связи с соответствием видам клостридий к данной вакцине. Данные результаты были подтверждены лабораторными испытаниями на морских свинках. Тем не менее при снижении соотношения титра антител и антигена ниже 40 % против учитываемых токсинов клостридий, несмотря на то, что животные были вакцинированы вакциной «ТОКСИПРА плюс», это приводило к летальному исходу.

Применение современных вакцин не всегда обеспечивает необходимую защиту коров от данной болезни, поэтому должны быть приняты комплексные меры, связанные с надлежащей уборкой и обработкой мест пребывания животных дезинфицирующими средствами. Результативным действием против клостридий обладает средство «Форбицид» с концентрацией 10 % и экспозицией 24 ч, а также перекись водорода 6 % с экспозицией 180 мин, из расчета расхода описываемых средств 0,5 л/м<sup>2</sup> на обрабатываемую поверхность стойл и кормового стола.

#### Список источников

1. Безбородова Н.А. Современный подход к проблеме клостридиозов в животноводстве: отбор проб, лабораторная диагностика, профилактика // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2020. № 3 (35). С. 392–402.
2. Литусов Н.В. Возбудители клостридиальной анаэробной инфекции: учеб. пособие. Екатеринбург: УГМУ, 2017. 19 с.
3. Можно ли победить клостридиоз / М.И. Лозовану [и др.] // Комбикорма. 2022. № 12. С. 57–60.
4. Таран Т.В. Клостридии – возбудители газовой гангрены, столбняка, ботулизма: курс лекций. Ставрополь, 2014. 60 с.

5. Современные представления об этиопатогенетических и генетических особенностях токсинов *Clostridium perfringens* / Ю.В. Лобзин [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2021. № 1. С. 91–103.
6. Диагностика клостридиозов животных: учеб. пособие / А.А. Шевченко [и др.]. Краснодар: КубГАУ, 2013. 36 с.
2. *Litusov N.V.* Vozbuditeli klostridial'noj ana`erobnoj infekcii: ucheb. posobie. Ekaterinburg: UGMU, 2017. 19 s.
3. *Mozhno li pobedit' klostridioz* / *M.I. Lozovanu* [i dr.] // *Kombikorma*. 2022. № 12. S. 57–60.
4. *Taran T.V.* Klostridii – vozbuditeli gazovoj gangreny, stolbnyaka, botulizma: kurs lekcij. Stavropol', 2014. 60 s.
5. *Sovremennye predstavleniya ob`etiopatogeneticheskikh i geneticheskikh osobennostyah toksinov Clostridium perfringens* / *Yu.V. Lobzin* [i dr.] // *Zhurnal mikrobiologii, `epidemiologii i immunobiologii*. 2021. № 1. S. 91–103.
6. *Diagnostika klostridiozov zhivotnyh: ucheb. posobie* / *A.A. Shevchenko* [i dr.]. Krasnodar: KubGAU, 2013. 36 s.

### References

1. *Bezborodova N.A.* Sovremennij podhod k probleme klostridiozov v zivotnovodstve: otbor prob, laboratornaya diagnostika, profilaktika // *Problemy veterinarnoj sanitarii, gigeny i `ekologii*. 2020. № 3 (35). S. 392–402.
6. *Diagnostika klostridiozov zhivotnyh: ucheb. posobie* / *A.A. Shevchenko* [i dr.]. Krasnodar: KubGAU, 2013. 36 s.

Статья принята к публикации 03.11.2023 / The article accepted for publication 03.11.2023.

Информация об авторах:

**Алмаз Агиянович Башаров**<sup>1</sup>, доцент кафедры физиологии, биохимии и кормления животных, кандидат сельскохозяйственных наук

**Фидаиль Фанильевич Юзлекбаев**<sup>2</sup>, научный руководитель мобильной экспресс-лаборатории, ведущий ветеринарный врач высшей категории

**Идрис Фидаевич Юмагузин**<sup>3</sup>, ведущий научный сотрудник отдела животноводства, кандидат сельскохозяйственных наук

Information about the authors:

**Almaz Agiyanovich Basharov**<sup>1</sup>, Associate Professor at the Department of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition, Candidate of Agricultural Sciences

**Fidail Fanilievich Yuzlekbayev**<sup>2</sup>, Scientific Director of the Mobile Express Laboratory, Leading Veterinarian of the Highest Category

**Idris Fidaevich Yumaguzin**<sup>3</sup>, Leading Researcher, Livestock Department, Candidate of Agricultural Sciences

