

Айдар Фаритович Махмутов<sup>1✉</sup>, Геннадий Николаевич Спиридонов<sup>2</sup>,

Лилия Шамилевна Дуплева<sup>3</sup>, Ильнур Тагирович Хусаинов<sup>4</sup>, Айрат Сайдашевич Зарипов<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Республика Татарстан, Россия

<sup>5</sup>Республиканская ветеринарная лаборатория Республики Татарстан, Казань, Республика Татарстан, Россия

<sup>1</sup>Makhmutov.aidar@bk.ru

<sup>2</sup>spiridonovkzn57@gmail.com

<sup>3</sup>dupleva.liliya@mail.ru

<sup>4</sup>ilnur7612@yandex.ru

<sup>5</sup>rvi-rt-kazan@yandex.ru

## ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ МАСТИТА КОРОВ

Цель исследования – доклиническое изучение поливалентной вакцины против мастита коров. Вакцина изготовлена на основе инактивированных бактерий штаммов *Streptococcus uberis* «3Т-СД», *Staphylococcus aureus* «18-Ц», *E. coli* «19-СД». В качестве адъюванта использован 6 % гель гидроокиси алюминия. При доклиническом исследовании проведено изучение физико-химических характеристик вакцины, полноты инактивации и стерильности, безвредности, пирогенности, антигенной активности, а также определение оптимальной прививной дозы вакцины для коров и изучение безвредности двукратного введения вакцины в профилактической и повышенной дозах. Поливалентная вакцина против маститов стерильна, безвредна для лабораторных (кролики) и целевых (коровы) животных. Двукратное ее введение способствует у кроликов синтезу специфических антител в сыворотке крови к антигену *Staphylococcus aureus* в титре  $853,33 \pm 261,28$ , к антигенам *Streptococcus uberis* и *E. coli* в титрах  $640,0 \pm 0,0$ . Установление оптимальной прививной дозы препарата для целевых животных проведено на 3 группах коров по 5 гол. в каждой. Испытывались дозы 3; 5 и 7 см<sup>3</sup>. Оптимальная прививная доза вакцины для коров – 5 см<sup>3</sup> при двукратном ее применении с интервалом 14 сут. После двукратного введения вакцины в профилактической и повышенной дозах у животных сохраняется нормальное физиологическое состояние, отсутствуют признаки патологических местных и системных реакций. Животные активно передвигаются, охотно принимают корм и воду, общая температура тела у них остается в пределах физиологической нормы.

**Ключевые слова:** коровы, мастит коров, поливалентная вакцина, доклиническое исследование вакцины, лабораторные животные

**Для цитирования:** Махмутов А.Ф., Спиридонов Г.Н., Дуплева Л.Ш. и др. Доклиническое исследование поливалентной вакцины против мастита коров // Вестник КрасГАУ. 2025. № 1. С. 119–125. DOI: 10.36718/1819-4036-2025-1-119-125.

Aidar Faritovich Makhmutov<sup>1✉</sup>, Gennady Nikolaevich Spiridonov<sup>2</sup>, Liliya Shamilevna Dupleva<sup>3</sup>, Ilnur Tagirovich Khusainov<sup>4</sup>, Airat Saidashevich Zaripov<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

<sup>5</sup>Republican Veterinary Laboratory of the Republic of Tatarstan, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

<sup>1</sup>Makhmutov.aidar@bk.ru

<sup>2</sup>spiridonovkzn57@gmail.com

<sup>3</sup>dupleva.liliya@mail.ru

<sup>4</sup>ilnur7612@yandex.ru

<sup>5</sup>rvi-rt-kazan@yandex.ru

## PRECLINICAL STUDY OF A POLYVALENT VACCINE AGAINST BOVINE MASTITIS

*The aim of the study is a preclinical study of a polyvalent vaccine against bovine mastitis. The vaccine is made on the basis of inactivated bacteria of the strains Streptococcus uberis 3T-SD, Staphylococcus aureus 18-C, E. coli 19-SD. 6 % aluminum hydroxide gel was used as an adjuvant. During the preclinical study, the physicochemical characteristics of the vaccine, the completeness of inactivation and sterility, harmlessness, pyrogenicity, antigenic activity were studied, as well as the optimal vaccination dose of the vaccine for cows was determined and the harmlessness of a double administration of the vaccine in prophylactic and increased doses was examined. The polyvalent vaccine against mastitis is sterile, harmless for laboratory (white mice) and target (cows) animals. Its double administration promotes the synthesis of specific antibodies in the blood serum of rabbits to the Staphylococcus aureus antigen in the titer of  $853.33 \pm 261.28$ , to the Streptococcus uberis and E. coli antigens in the titers of  $640.0 \pm 0.0$ . The optimal vaccination dose of the preparation for target animals was determined on 3 groups of cows with 5 heads in each. The doses tested were 3; 5 and 7 cm<sup>3</sup>. The optimal vaccination dose of the vaccine for cows is 5 cm<sup>3</sup> with its double administration with an interval of 14 days. After double administration of the vaccine in prophylactic and increased doses, the animals maintain a normal physiological state. They have no signs of pathological local and systemic reactions. Animals move actively, willingly take food and water, their general body temperature remains within the physiological norm.*

**Keywords:** cows, bovine mastitis, polyvalent vaccine, preclinical study of vaccine, laboratory animals

**For citation:** Makhmutov AF, Spiridonov GN, Dupleva LS, et al. Preclinical study of a polyvalent vaccine against bovine mastitis. *Bulliten KrasSAU*. 2025;(1):119-125 (In Russ.). <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2025-1-119-125>.

**Введение.** В скотоводческих хозяйствах маститы являются одной из распространенных болезней, где ежегодно переболевают различными формами маститов от 30 до 60 % коров. Причинами возникновения субклинических и клинических форм маститов, кроме не надлежащего содержания и кормления коров, является биологический фактор – патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, такие как *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *Mycoplasma bovis*, грибы *Aspergillus* spp., *Candida* spp. – возбудители акушерско-гинекологических заболеваний [1–4].

Маститы, особенно субклинические формы, причиняют производителям молока большой экономический ущерб, что связано с ухудшением качества молока и заболеваниями новорожденных телят вследствие приема некачест-

венного молока/молозива, а также расходов на лечебно-оздоровительные мероприятия [5].

Широкое применение лекарственных средств для лечения и профилактики маститов не всегда достигает своей цели. Это связано с тем, что многие возбудители болезни по ходу их применения приобретают устойчивость к ним. Отрицательно сказывается также остаточное содержание антибиотиков на качество молока [6]. Поэтому необходимо изыскать новые подходы для борьбы с маститами коров. Нами для специфической профилактики мастита коров разработана вакцина поливалентная на основе инактивированных антигенов бактерий *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* – возбудителей мастита коров.

**Цель исследования** – доклиническое изучение поливалентной вакцины против мастита коров.

**Объекты и методы.** При доклиническом исследовании проводили изучение физико-химических характеристик вакцины, полноты инактивации и стерильности, безвредности, пирогенности, антигенной активности, а также определение оптимальной прививной дозы вакцины для коров.

Определение физико-химических характеристик вакцины проводили визуально. Контроль стерильности вакцины проводили микробиологическим путем по ГОСТ 28085-2013 «Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Методы контроля стерильности», определение безвредности – по ГОСТ 31926-2013 «Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Методы определения безвредности».

Определение пирогенности вакцины проводили на трех кроликах живой массой от 2,5 до 3,5 кг. В период проведения опытов кролики находились в отдельной комнате с постоянной температурой, с колебанием не более чем на  $\pm 2$  °С. Измерение температуры тела у кроликов осуществляли после введения вакцины пять раз с промежутками в один час. Вакцину считали не пирогенной, если сумма повышений температуры у кроликов была меньше или равна 1,4 °С.

Исследованием титров специфических антител в сыворотке крови вакцинированных животных оценивали антигенную активность вакцины. Для этого трем кроликам массой от 2,0 до 2,5 кг подкожно вводили испытываемую вакцину двукратно с интервалом 14 сут в дозе 2 см<sup>3</sup>. Титры специфических антител к антигенам бактерий *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* определяли в сыворотке крови на 14 сутки после второй вакцинации в реакции агглютинации.

Определение оптимальной прививной дозы поливалентной вакцины проводили на 15 коровах в возрасте от 3 до 5 лет, живой массой от 550 до 650 кг, разделенных на три группы по пять голов в каждой. Коровам первой группы вакцину вводили двукратно, подкожно в дозе 3 см<sup>3</sup>, второй группы – 5 см<sup>3</sup>, третьей группы – 7 см<sup>3</sup>. От животных до введения вакцины, через 14 сут после первой и второй иммунизации отбирали пробы крови для определения титров специфических антител. По уровню антител определяли оптимальную прививную дозу вакцины.

**Результаты и их обсуждение.** Поливалентная вакцина против мастита коров изготовлена на основе инактивированных антигенов штаммов бактерий – возбудителей мастита коров *Streptococcus uberis* «3Т-СД», *Staphylococcus aureus* «18-Ц», *E. coli* «19-СД». Физико-химические и иммунобиологические показатели вакцины представлены в таблице 1.

Показатели антигенной активности вакцины представлены в таблице 2.

Таблица 1

**Физико-химические и иммунобиологические показатели поливалентной вакцины против мастита коров**  
**Physico-chemical and immunobiological parameters of the multivalent vaccine against cow mastitis**

Показатель	Поливалентная вакцина против мастита коров
Физико-химические свойства	Суспензия серовато-желтоватого цвета
Стерильность	Стерильна
Безвредность	Безвредна
Пирогенность	Апирогенна
Антигенная активность в РА	Индукцирует образование специфических антител: к <i>Streptococcus uberis</i> «3Т-СД» – 853,33 $\pm$ 261,28; <i>Staphylococcus aureus</i> «18-Ц» – 640,0 $\pm$ 0,0; <i>E. coli</i> «19-СД» – 640,0 $\pm$ 0,0

Таблица 2

**Титры специфических антител в сыворотке крови кроликов, иммунизированных вакциной против мастита коров ( $M \pm m$ ) ( $n = 3$ )**  
**Titers of specific antibodies in the blood serum of rabbits immunized with the cow mastitis vaccine ( $M \pm m$ ) ( $n = 3$ )**

Номер серии вакцины	Вид антигена в поливалентной вакцине	Уровень антител в РА		
		Сроки исследования		
		до иммунизации	после 1-й иммунизации	после 2-й иммунизации
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0 ± 0,0	213,33 ± 65,32	853,33 ± 61,28
	<i>Streptococcus uberis</i>	0,0 ± 0,0	160,0 ± 0,0	640,0 ± 0,0
	<i>E. coli</i>	0,0 ± 0,0	213,33 ± 65,32	640,0 ± 0,0
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0 ± 0,0	213,33 ± 65,32	853,33 ± 61,28
	<i>Streptococcus uberis</i>	0,0 ± 0,0	213,33 ± 65,32	640,0 ± 0,0
	<i>E. coli</i>	0,0 ± 0,0	160,0 ± 0,0	640,0 ± 0,0

Из таблицы 2 видно, что поливалентная вакцина против мастита коров обладает выраженной антигенной активностью. При двукратном введении она способствует накоплению специфических антител в крови кроликов к антигену *Staphylococcus aureus* в титре  $853,33 \pm 261,28$ , к

антигенам *Streptococcus uberis* и *E. coli* в титрах  $640,0 \pm 0,0$ .

Результаты исследования по определению оптимальной дозы поливалентной вакцины для коров приведены в таблице 3.

Таблица 3

**Титры специфических антител в сыворотке крови коров, вакцинированных разными дозами вакцины ( $M \pm m$ ) ( $n = 5$ )**  
**Titers of specific antibodies in the blood serum of cows vaccinated with different doses of the vaccine ( $M \pm m$ ) ( $n = 5$ )**

Доза вакцины, см <sup>3</sup>	Вид антигена в вакцине	Уровень антител в РА		
		Сроки исследования		
		до иммунизации	после 1-й иммунизации	после 2-й иммунизации
3 + 3	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0±0,0	256,00±43,82	512,00±87,64
	<i>Streptococcus uberis</i>	0,0±0,0	160,00±0,00	320,00±0,00
	<i>E. coli</i>	0,0±0,0	192,00±35,78	384,00±71,55
5 + 5	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0±0,0	512,00±87,64	1024,00±175,27
	<i>Streptococcus uberis</i>	0,0±0,0	512,00±87,64	1024,00±175,27
	<i>E. coli</i>	0,0±0,0	576,00±71,55	1152,00±143,11
7 + 7	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0±0,0	576,00±71,55	1152,00±143,11
	<i>Streptococcus uberis</i>	0,0±0,0	576,00±71,55	1152,00±143,11
	<i>E. coli</i>	0,0±0,0	576,00±71,55	1152,00±143,11

Данные, приведенные в таблице 3, свидетельствуют, что иммунизация коров поливалентной вакциной сопровождается образованием специфических антител в крови животных в высоких титрах против всех антигенных компонентов вакцины. Наиболее высокие титры выявлены у животных второй и третьей групп, двукратно вакцинированных в дозах 5 и 10 см<sup>3</sup>, соответ-

ственно. У животных третьей группы они были чуть выше, но достоверной разницы между титрами антител животных второй группы не выявлено. Таким образом, оптимальной прививной дозой вакцины для коров является 5 см<sup>3</sup> при двукратном ее применении.

При исследовании установлено также, что после двукратного введения вакцины в профилакти-

ческой и повышенной дозах у животных сохраняется нормальное физиологическое состояние. У них отсутствуют признаки патологических местных и системных реакций. Животные активно

передвигаются, охотно принимают корм и воду, общая температура тела у них остается в пределах физиологической нормы (табл. 4, 5).

Таблица 4

**Показатели температуры тела коров после 1-й вакцинации ( $M \pm m$ ) (n = 5)**  
**Body temperature of cows after 1 vaccination ( $M \pm m$ ) (n = 5)**

Группа животных (доза вакцины)	Инвентарный номер животного	Температура тела животных, °С			
		Перед введением вакцины	После введения вакцины		
			через 24 ч	через 48 ч	через 96 ч
Первая – опытная (5 см <sup>3</sup> )	280	38,6	38,4	38,5	38,5
	900	38,1	38,4	38,2	38,1
	922	38,4	38,5	38,5	38,6
	664	38,5	38,5	38,4	38,5
	1324	38,7	38,6	38,5	38,6
	Средняя	38,46±0,12	38,48±0,04	38,42±0,07	38,46±0,10
Вторая – опытная (10 см <sup>3</sup> )	846	38,5	38,3	38,4	38,5
	948	38,5	38,5	38,5	38,5
	1414	38,8	38,5	38,6	38,5
	1182	38,9	38,8	38,7	38,5
	16/22	38,8	38,5	38,5	38,6
	Средняя	38,70±0,09	38,52±0,09	38,54±0,06	38,52±0,02
Третья – контрольная	732	38,7	38,6	38,5	38,6
	1756	38,4	38,4	38,4	38,4
	1494	38,5	38,5	38,6	38,5
	12/25	38,7	38,7	38,6	38,5
	1590	38,6	38,7	38,6	38,6
	Средняя	38,58±0,07	38,58±0,07	38,54±0,04	38,52±0,04

Таблица 5

**Показатели температуры тела коров после 2-й вакцинации ( $M \pm m$ ) (n = 5)**  
**Body temperature of cows after the 2nd vaccination ( $M \pm m$ ) (n = 5)**

Группа животных (доза вакцины)	Инвентарный номер животного	Температура тела животных, °С			
		Перед введением вакцины	После введения вакцины		
			через 24 ч	через 48 ч	через 96 ч
1	2	3	4	5	6
Первая – опытная (5 см <sup>3</sup> )	280	38,5	38,5	38,4	38,5
	900	38,3	38,5	38,4	38,2
	922	38,5	38,4	38,5	38,5
	664	38,5	38,5	38,5	38,5
	1324	38,6	38,5	38,6	38,5
	Средняя	38,48±0,05	38,48±0,02	38,48±0,04	38,44±0,07
Вторая – опытная (10 см <sup>3</sup> )	846	38,4	38,4	38,5	38,4
	948	38,5	38,5	38,5	38,6
	1414	38,6	38,5	38,6	38,5
	1182	38,8	38,8	38,8	38,5
	16/22	38,7	38,5	38,6	38,6
	Средняя	38,60±0,08	38,54±0,08	38,60±0,06	38,52±0,04

Окончание табл. 5

1	2	3	4	5	6
Третья – контрольная	732	38,6	38,4	38,3	38,5
	1756	38,5	38,3	38,5	38,4
	1494	38,4	38,5	38,4	38,5
	12/25	38,5	38,5	38,4	38,5
	1590	38,3	38,4	38,3	38,3
	Средняя	38,46±0,06	38,42±0,04	38,38±0,04	38,44±0,04

На месте введения вакцины в первые часы отмечается небольшая припухлость, самопроизвольно исчезающая в течение суток. Отличия в физиологическом состоянии у животных опытных и контрольной групп не отмечены.

### Заключение

1. Для специфической профилактики мастита коров изготовлена поливалентная вакцина на

основе антигенов бактерий *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* и *E. coli*.

2. Доклиническое исследование вакцины показало, что она стерильна, безвредна для животных, не пирогенна, обладает выраженной антигенной активностью.

3. Оптимальной прививной дозой для коров является 5 см<sup>3</sup> при двукратном ее применении с интервалом 14 сут.

### Список источников

1. Бурова Л.А., Тололян А.А. Основные факторы патогенности *Streptococcus pyogenes* // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 33–50. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MPF-1723>.
2. Хамидуллин Р.Р., Трemasова А.М., Идиятов И.И., и др. Микробиоценоз половых путей у коров при остром послеродовом эндометрите // Ветеринарный врач. 2023. № 1. С. 64–69. [https://doi.org/10.33632/1998-698X\\_2023\\_1\\_64](https://doi.org/10.33632/1998-698X_2023_1_64). EDN: KYPNXO.
3. Осколкова М.В., Кузьмина Э.В. Этиология мастита и его взаимосвязь с гинекологическими заболеваниями крупного рогатого скота // Ветеринария. 2014. № 4 (48). С. 86–88.
4. Махмутов А.Ф., Спиридонов Г.Н., Дуплева Л.Ш., и др. Этиологическая структура маститов коров в крупных животноводческих комплексах по производству молока // Ветеринарный врач. 2023. № 2. С. 4–9. [https://doi.org/10.33632/1998-698X\\_2023\\_2\\_4](https://doi.org/10.33632/1998-698X_2023_2_4). EDN: EIKFNK.
5. Новикова Е.Н., Коба И.С., Шевченко А.Н. и др. Метод профилактики акушерско-гинекологической патологии у коров // Ветеринария и кормление. 2018. № 6. С. 25–26. <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-6-9>. EDN: YPTMSD.
6. Белбуцкая А.А., Скворцов В.Н., Белимова С.С. Антибиотикограмма микроорганизмов, выделенных от больных острым эндометритом коров // Ветеринарный врач. 2019. № 5. С. 4–10. <https://doi.org/10.33632/1998-698X.2019-5-4-10>. EDN: BNPHLB.

### References

1. Burova LA, Tololian AA. Major pathogenicity factors of *Streptococcus pyogenes*. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022;12(1):33–50. (In Russ.). <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MPF-1723>.
2. Khamidullin RR, Tremasova AM, Idiyatov II, et al. Microbiocenosis of the genital tract in cows with acute postpartum endometritis. *Veterinary vrach*. 2023;(1):64-69. (In Russ.). [https://doi.org/10.33632/1998-698X\\_2023\\_1\\_64](https://doi.org/10.33632/1998-698X_2023_1_64). EDN: KYPNXO.
3. Oskolkova MV, Kuz'mina JeV. Etiology of mastitis and its relationship with gynecological diseases of cattle. *Veterinarija*. 2014;(4):86-88. (In Russ.)
4. Makhmutov AF, Spiridonov GN, Dupleva LSh., et al. The etiological structure of mastitis in cows in large livestock complexes for milk production. *Veterinary vrach*. 2023;(2):4-9. (In Russ.). [https://doi.org/10.33632/1998-698X\\_2023\\_2\\_4](https://doi.org/10.33632/1998-698X_2023_2_4). EDN: EIKFNK.

5. Novikova EN, Koba IS, Shevchenko AN, et al. Method of prevention of obstetric pathology in cows. *Veterinarija i kormlenie*. 2018;(6):25-26. (In Russ.). <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-6-9>. EDN: YPTMSD.
6. Balbutskaya AA, Skvortsov VN, Belimova SS. Antibioticogram of microorganisms isolated from the dairy cattle with acute endometritis. *Veterinarnyj vrach*. 2019;(5):4-10. (In Russ.). <https://doi.org/10.33632/1998-698X.2019-5-4-10>. EDN: BNPHLB.

Статья принята к публикации 05.11.2024 / The article accepted for publication 05.11.2024.

Информация об авторах:

**Айдар Фаритович Махмутов**<sup>1</sup>, ведущий научный сотрудник лаборатории бактериальных патологий животных, кандидат биологических наук

**Геннадий Николаевич Спиридонов**<sup>2</sup>, заведующий лабораторией бактериальных патологий животных, доктор биологических наук

**Лилия Шамилевна Дуплева**<sup>3</sup>, старший научный сотрудник лаборатории бактериальных патологий животных, кандидат биологических наук

**Ильнур Тагирович Хусаинов**<sup>4</sup>, научный сотрудник лаборатории бактериальных патологий животных

**Айрат Сайдашевич Зарипов**<sup>5</sup>, заместитель директора, кандидат биологических наук

Information about the authors:

**Aidar Faritovich Makhmutov**<sup>1</sup>, Leading Researcher at the Laboratory of Bacterial Pathologies of Animals, Candidate of Biological Sciences

**Gennady Nikolaevich Spiridonov**<sup>2</sup>, Head of the Laboratory of Bacterial Pathologies of Animals, Doctor of Biological Sciences

**Liliya Shamilevna Dupleva**<sup>3</sup>, Senior Researcher, Laboratory of Bacterial Pathologies of Animals, Candidate of Biological Sciences

**Ilnur Tagirovich Khusainov**<sup>4</sup>, Researcher at the Laboratory of Bacterial Pathologies of Animals

**Airat Saidashevich Zaripov**<sup>5</sup>, Deputy Director, Candidate of Biological Sciences

