

DOI 10.52368/2078-0109-2025-61-1-4-10

УДК 619:616.98:579.843.95

ПОДБОР АДЪЮВАНТОВ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ПАСТЕРЕЛЛЕЗОВ НА ТЕЛЯТАХ

Красочко П.А. ORCID ID 0000-0002-4641-4757, Красочко П.П. ORCID ID 0000-0003-3309-0666, Иващенко И.А.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Цель исследования – подбор оптимальных адъювантов при конструировании поливалентной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции и пастереллезов крупного рогатого скота. Вакцину готовили в условиях ОАО «БелВитунифарм». Вакцина содержит авирулентные инактивированные формальдегидом штаммы вирусов инфекционного ринотрахеита, диареи, парагриппа-3, *M. haemolytica* и *P. multocida* (тип А и В), рекомбинантный штамм кишечной палочки с геномом РС-вируса, масляный адъювант. Вирусы нарабатывали отдельно в культуре клеток МДБК, где они накапливались в следующих титрах: инфекционного ринотрахеита – 6,5 lg ТЦД 50/мл, вируса диареи – 7,0 lg ТЦД 50/мл, вируса парагриппа-3 – 5,5 lg ТЦД 50/мл. Накопление *M. haemolytica* и *P. multocida* проводили на бульоне Хоттингера до концентрации 3,0 млрд микробных тел в 1 мл, рекомбинантный штамм *Escherichia coli* с геномом РС-вируса на питательной среде, содержащей пептон, дрожжевой экстракт, глицерин, фосфаты, хлориды и сульфаты, – до концентрации 3,0 млрд микробных тел в 1 мл. Исследования по подбору адъюванта в вакцине «Пастевир-Р» против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции и пастереллезов осуществляли в ОАО «Пальминки» Городокского района Витебской области на телятах. Установлено, что при разработке вакцины против вирусно-бактериальных инфекций молодняка крупного рогатого скота более высокие показатели иммуногенности, отражающие стимулирование гуморального иммунного ответа, были получены при применении масляных депонирующих веществ Монтаниды ИЗА 201 (*Montanidae*, Seppic, Франция) в концентрации 50%. **Ключевые слова:** телята, адъювант, рекомбинантный штамм, вирусы, вакцина.*

SELECTION OF ADJUVANTS IN THE DESIGN OF A VACCINE AGAINST VIRAL RESPIRATORY INFECTIONS AND PASTEURELLOSES IN CALVES

Krasochko P.A., Krasochko P.P., Ivaschenko I.A.
EE “Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine”, Vitebsk, Republic of Belarus

*The purpose of the study is to select optimal adjuvants in the design of a polyvalent vaccine against infectious rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3, respiratory syncytial infection and bovine pasteurellosis. The vaccine was prepared under the conditions of BelVituunifarm OJSC. The vaccine contains avirulent formaldehyde-inactivated strains of infectious rhinotracheitis viruses, diarrhea, parainfluenza-3, *M. haemolytica* and *P. multocida* (type A and B), recombinant strain of *E. coli* with genome of PC-virus, oily adjuvant. Viruses were produced separately in MDBK cell culture, where they accumulated in the following titers: infectious rhinotracheitis – 6.5 lg TCD 50/ml, diarrhea virus – 7.0 lg TCD 50/ml, parainfluenza-3 virus – 5.5 lg TCD 50/ml. Accumulation of *M. haemolytica* and *P. Multocida* was carried out on Hottinger broth to a concentration of – 3.0 billion microbial bodies in 1 ml, a recombinant strain of *Escherichia coli* with the PC virus genome on a nutrient medium containing peptone, yeast extract, glycerol, phosphates, chlorides and sulfates to a concentration of – 3.0 billion microbial bodies in 1 ml. Studies on the selection of an adjuvant in the Pastevir-R vaccine against infectious rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3, respiratory syncytial infection and pasteurellosis were carried out in OAO “Palminki”, Gorodok district, Vitebsk region, on calves. It was found that in the development of a vaccine against viral-bacterial infections of young cattle, higher immunogenicity indicators reflecting the stimulation of the humoral immune response were obtained using Montanida IZA 201 oil depositing substances (*Montanidae*, Seppic, France) at a concentration of 50%. **Keywords:** cattle, adjuvant, recombinant strain, viruses, vaccine.*

Введение. Промышленное ведение животноводства на современном этапе обусловлено выращиванием животных в закрытых животноводческих помещениях, безвыгульным и безвыпасным содержанием, скученностью, ограниченным фронтом кормления, частыми нарушениями микроклимата, что ведет к стрессированию организма, угнетению иммунитета и нарушениям обменных процессов. На этом фоне происходит активизация условно-патогенной микрофлоры, приводящей к массовым заболеваниям органов дыхания и пищеварения.

При современном уровне интенсивности животноводства вирусные респираторные и кишечные инфекции телят и взрослого скота — значимый негативный фактор, который наносит существенный экономический ущерб отрасли.

В этиологической структуре респираторных инфекций ведущую роль играют вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3 и респираторно-синцитиальный вирус, а также пастереллы, сальмонеллы, клебсиеллы, стрептококки и другие возбудители. Особенностью инфекционных заболеваний органов дыхания является то, что они часто протекают в смешанной форме, и зачастую невозможно дифференцировать ведущую роль того или иного патогена. Соответственно, эффективная специфическая вакцинопрофилактика достигается за счет применения комбинированных многокомпонентных вакцин, содержащих в своем составе несколько актуальных антигенов [1, 3].

Проблема борьбы с респираторными болезнями молодняка крупного рогатого скота, вызываемыми вирусами инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3 и респираторно-синцитиальным вирусом, пастереллами и манхемиями, остается актуальной. Наиболее эффективным методом защиты от инфекционных заболеваний является специфическая профилактика животных. Иммунизация стельных сухостойных коров способствует повышенной выработке поствакцинальных антител, повышению их концентрации в молозиве. Новорожденный теленок, полученный от вакцинированной матери, при условии своевременной выпойки молозива, приобретает стойкий колостральный иммунитет. Однако количество колостральных антител к 2-месячному возрасту значительно снижается, и теленок подвергается риску заражения. Таким образом, наряду с вакцинацией стельных коров, необходимо проводить иммунизацию молодняка [3].

Традиционная технология изготовления вакцин обуславливает накопление вакцинных штаммов вирусов на культуре клеток, а бактерий – на питательных средах. Получение инактивированных вакцин предусматривает инактивацию монокомпонентов биопрепарата.

Однако ряд вирусов имеет низкую активность и накапливается на культуре клеток в невысоких титрах. Использование таких вирусов не позволяет получить высокоактивную вакцину. Поэтому для повышения антигенной активности биопрепаратов используются рекомбинантные антигены. Для этого нами совместно со специалистами ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» проведены исследования по конструированию рекомбинантного штамма *Escherichia coli* – продуцента белка F1 респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота путем создания новой плазмиды, несущей ген F1, кодирующий белок F1 вируса.

Полученный рекомбинантный штамм бактерий с геномом РС-вируса нами использован для конструирования и изготовления поливалентной инактивированной вакцины с антигенами вирусов инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3 и бактерий – *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* штаммы 1 и 2 и рекомбинантного штамма *Escherichia coli* – продуцента белка F1 респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота [2].

Важной составляющей любой инактивированной вакцины, помимо ее антигенной части, является адъювант, который должен обеспечивать значительное повышение антигенных и иммуногенных свойств вирусных компонентов препарата, стимулируя образование длительного и напряженного поствакцинального иммунитета. При этом повышение антигенности и иммуногенности вакцины не должно быть осуществлено в ущерб ее безвредности и безопасности [4, 5].

Разработка безопасных, высокоочищенных субъединичных и инактивированных вакцин требует безопасных и эффективных адъювантов, поскольку антигены в этих типах вакцин обычно менее иммуногенны по сравнению с модифицированными живыми микроорганизмами.

Адъюванты – вспомогательные компоненты, оказывающие неспецифическое стимулирующее действие на иммунный ответ при совместном их применении со специфическими антигенами, или, другими словами, вещества, повышающие иммунный потенциал вакцин. Для повышения эффективности вакцин при инфекционных заболеваниях используют адъюванты, различные по физико-химическим свойствам, механизму действия, происхождению [5, 9].

В настоящее время известно большое количество веществ, которые способны оказывать иммуностимулирующее (адъювантное) действие на различные антигены. В качестве их используются убитые микроорганизмы или их метаболиты (микобактерии, коринебактерии, нокардии, продукты метаболизма бацилл и др.), органические вещества (бактериальные полисахариды и липополисахариды, хитозан и др.), неорганические вещества (гидроксид алюминия, фосфат алюминия, хлорид кальция, фосфат кальция, гидроксид железа, аммониевокальциевые квасцы, минеральные масла, наночастицы металлов – серебра, цинка и др.), синтетические вещества (нуклеотиды, полианионы и др.). Кроме простых адъювантов, используют сложные, представляющие собой смеси липидов с минеральными сорбентами, масел с липополисахаридами и эмульгаторами, микроорганизмов с маслами и другими веществами [6, 7, 8, 10, 11].

Включение адъювантов в состав вакцин обеспечивает более быстрое формирование выраженного и длительного специфического иммунитета. Целесообразность использования адъювантов в вакцинах заключается в повышении иммуногенности вакцин, изменении характера иммунного ответа, снижении количества антигена, необходимого для успешной иммунизации, уменьшении кратности введения вакцины и повышении интенсивности иммунного ответа [5].

Конструирование вакцинных препаратов на основе иммуногенных антигенов, синтезируемых рекомбинантными продуцентами, в значительной мере решило проблему остаточной вирулентности и реактогенности. Однако исследования последних десятилетий показали, что продукты геномных технологий обладают недостаточной иммуногенностью, в том числе вследствие отсутствия у них патоген-ассоциированных молекулярных структур микроорганизмов, взаимодействующих с рецепторами врожденного иммунитета. Стимуляция структур врожденного иммунитета инициирует каскад реакций, запускающих развитие адаптивного иммунитета. Следовательно, вакцины на основе рекомбинантных иммуногенных антигенов требуют включения в рецептуру веществ, неспецифически усиливающих иммунный ответ [2].

Однако для того, чтобы вызвать достаточный защитный иммунитет, необходимо эффективно активировать врожденную иммунную систему, чтобы сымитировать инфекцию, требующую активации адаптивной иммунной системы. Традиционно это достигается путем включения в вакцины адъювантов, поскольку очищенные растворимые соединения сами по себе не активируют в достаточной степени ни врожденную, ни адаптивную иммунную систему [9].

Наиболее ранние предположения о механизме действия адъювантов сложились как о вспомогательных веществах, которые создают эффект депо в месте введения вакцины, предотвращая быструю элиминацию антигена. В дальнейшем за счет длительного высвобождения антигена осуществляется более продолжительная стимуляция иммунокомпетентных клеток, что в свою очередь ведет к формированию более выраженного иммунного ответа. Однако хирургическое удаление антигена с адъювантом вместе с окружающими тканями из места введения через четыре дня после инъекции не предотвращает развитие иммунного ответа к данному антигену, а многократное введение свободного от адъюванта антигена не всегда приводит к формированию иммунного ответа, эквивалентного таковому при введении антигена с адъювантом [5, 9, 10, 11].

Воздействие адъюванта на антиген и организм животного имеет сложный и многогранный характер, разные адъюванты могут иметь разные механизмы действия и оказывать неодинаковое влияние на развитие поствакцинального иммунного ответа. Поэтому подбор эффективного и безопасного адъюванта для конкретной вакцины с учетом специфики входящих в ее состав антигенов всегда является актуальной задачей.

Цель исследования — подбор оптимальных адъювантов при конструировании поливалентной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцициальной инфекции и пастереллезов крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней, отраслевой лабораторией ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО ВГАВМ совместно со специалистами ОАО «БелВитунифарм».

Инактивированную вакцину с различными адъювантами изготавливали в условиях ОАО «БелВитунифарм», используя штаммы вирусов инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3 и бактерии – *M. haemolytica* и *P. multocida* и рекомбинантный штамм *Escherichia coli* с геномом РС-вируса. Исследования по подбору адъюванта вакцины «Пастевир-Р» против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцициальной инфекции и пастереллезов осуществляли в ОАО «Пальминка» Городокского района Витебской области на теллятах 30-35-дневного возраста.

Вакцину готовили по разработанной нами схеме в ОАО «БелВитунифарм», используя вышеуказанные штаммы вирусов и бактерий. Для изготовления образцов вакцины с различными адъювантами использовали масляный адъювант MontanidaeISA 201 (Montanidae, Seppic, France) в 50% концентрации и MontanidaeISA 61 в 15% концентрации (Montanidae, Seppic, France).

Для подбора оптимального адъюванта было сформировано три группы теллят 30-35-дневного возраста по 5 голов в каждой. Теллятам опытной группы №1 вводили образец вакцины «Пастевир-Р» с адъювантом ISA-61 в дозе 2 мл, опытной группы №2 вводили образец вакцины «Пастевир-Р» с адъювантом ISA-201 в дозе 2 мл, теллята группы №3 – интактные.

Теллятам опытных групп инъецировали внутримышечно биопрепарат с различным соотношением монокомпонентов в соответствии со схемой опыта двукратно с интервалом в 21 сутки. Животным контрольной группы вводили вирусвакцину против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцициальной, рота- и коронавирусной инфекций «Большевик» по той же схеме.

Для исследования поствакцинального иммунитета осуществим взятие проб сыворотки крови до и на 21-й день после второго введения вакцины. В пробах сыворотки крови у теллят определим титр противовирусных антител в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с эритроцитарными диагностикумами, содержащими антигены вирусов ИРТ, ВД, ПГ-3, РСИ по общепринятой методике, антибактериальных (противопастереллезных) – в реакции агглютинации (РА).

Статистическую обработку проводили с использованием персонального компьютера и программы Excel.

Результаты исследований. Работу по изготовлению инактивированной комбинированной вакцины против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной инфекции и пастереллезов крупного рогатого скота «Пастевир-Р» проводили в несколько этапов.

На первом этапе провели накопление вирусосодержащей жидкости вирусов инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3 крупного рогатого скота на культуре перевиваемых клеток МДБК, выращенной на питательной среде 199 и среде Игла по 45% с добавлением 10% сыворотки крови крупного рогатого скота. Заражение клеточного монослоя производили путем внесения расплодки маточной культуры вирусов не более 15 пассажа. При этом вирусы инфекционного ринотрахеита, диареи, парагриппа-3 крупного рогатого скота культивировали отдельно. После 1,5-2-часового контакта вносили поддерживающую среду – среду 199 и среду Игла по 45%. ЦПД вирусов проявляется через 24-120 часов. После поражения свыше 75% клеток на матрасах с зараженным монослоем их подвергали замораживанию с последующим титрованием.

Вирусы инфекционного ринотрахеита, диареи, парагриппа-3 накапливались в следующих титрах: инфекционного ринотрахеита – 6,5 Ig ТЦД 50/мл, вируса диареи – 7,0 Ig ТЦД 50/мл, вируса парагриппа-3 – 5,5 Ig ТЦД 50/мл.

Накопление *M. haemolytica* и *P. multocida* проводили на бульоне Хоттингера до концентрации – 3,0 млрд микробных тел в 1 мл, рекомбинатный штамм *Escherichia coli* с геномом РС-вируса на питательной среде, содержащей пептон, дрожжевой экстракт, глицерин, фосфаты, хлориды и сульфаты в колбах Эрленмейера объемом 2 л при температуре 37 ± 1 °С на термостатированной качалке, до концентрации – 3,0 млрд микробных тел в 1 мл.

Инактивацию вакцинных штаммов – компонентов вирусвакцины поливалентной инактивированной против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции и пастереллезов крупного рогатого скота проведена с использованием инактиванта формальдегида.

Для инактивации вирусов в оттитрованную вирусосодержащую жидкость с титром 6,5-7,0 Ig ТЦД 50/мл, накопленную на культуре клеток в роллерных флаконах, использовали формалин в 0,3% концентрации. Перед его внесением вирусную суспензию нагревали до 37°С и вносили в нее формалин до 0,3% концентрации. Инактивацию проводили при температуре 37°С, pH 7,5–7,8 в течение 24 ч.

Для инактивации бактерий *M. haemolytica* и *P. Multocida* и рекомбинатный штамм бактерий *Escherichia coli* с геномом РС-вируса) в концентрации 3,0 млрд микробных тел в 1 мл также использовали формалин в конечной 0,3% концентрации. Предварительно бактериальную массу подогрели до 37°С и вносили в нее инактивант. Инактивацию проводили при температуре 37°С, pH 7,5–7,8. После контакта бактерий с инактивантами в течение 12, 24, 36 и 48 часов была проверена полнота инактивации путем высева на агар Хоттингера.

Для нейтрализации формалина в суспензию инактивированного и охлажденного вируса и бактерий добавляли 1М раствор тиосульфата натрия из расчета 10% к объему использованного инактиванта.

Перед изготовлением вакцины была изучена антигенная активность монокомпонентов вакцины на морских свинках. Для этого им вводили двукратно с интервалом в 14 дней по 0,5 мл каждого инактивированного монокомпонента – вирусов инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3 и диареи, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* серовар А, *Pasteurella multocida* серовар В. Вирусы вводились в титре 5,0-7,0 Ig ТЦД 50/мл, бактерий - 3,0 млрд микробных тел в 1 мл. Через 21 день после второго введения антигенов у животных была взята кровь и определен уровень антител в РНГА или РА. Так, титр антител к вирусам составлял 3,5-4,5 log₂, к бактериям – 4,0-5,0 log₂.

Приготовленные образцы вакцины с различными адъювантами перед использованием на телах проверили в лабораторных условиях на предмет безопасности. Для этого была проверена безвредность биопрепаратов на белых мышах путем введения им по 0,2 мл подкожно. Установлено, что введение мышам биопрепаратов не оказало отрицательного действия на животных – в течение 10 дней все мыши были живы, на месте введения абсцессов и припухлости не установлено.

Для оценки стерильности образцы вакцины по 0,2 мл, с использованием правил асептики, были внесены на питательные среды – мясо-пептонный бульон, мясо-пептонный агар, мясо-пептонный печеночный бульон, агар Сабуро. Засеянные среды были помещены в термостат при +37°С, агар Сабуро – при +20+22°С на 10 дней. В течение 10 дней роста бактерий и грибов на питательных средах не выявлено.

Оценку реактогенности образцов вакцины проводили на морских свинках. Для этого было взято 15 животных по 5 голов в группе. Свинкам опытной группы № 1 вводили по 0,5 мл вакцины с адъювантом ISA-61 внутримышечно с внутренней стороны бедра; животным опытной группы № 2 вводили по 0,5 мл вакцины с адъювантом ISA-201, 3-я группа – контроль – им вводили по 0,5 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. Наблюдение за животными проводили в те-

чение 14 дней. Установлено, что на месте введения биопрепаратов не отмечено припухлости и болезненности в течение всего срока наблюдения.

При введении телятам опытных групп образцов вакцины «Пастевир-Р» с различными адъювантами изменений в их клиническом состоянии, местных изменений, аллергических реакций не выявлено. Аппетит и продуктивность не снижались.

Результаты биосинтеза поствакцинальных противовирусных антител при подборе оптимального адъюванта при конструировании поливалентной инактивированной вакцины «Пастевир-Р» против инфекционного ринотрахеита, диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции, *M. haemolytica* и *P. multocida* (серовары А и В) с рекомбинантным штаммом кишечной палочки с геномом РС-вируса показаны на рисунках 1-2.

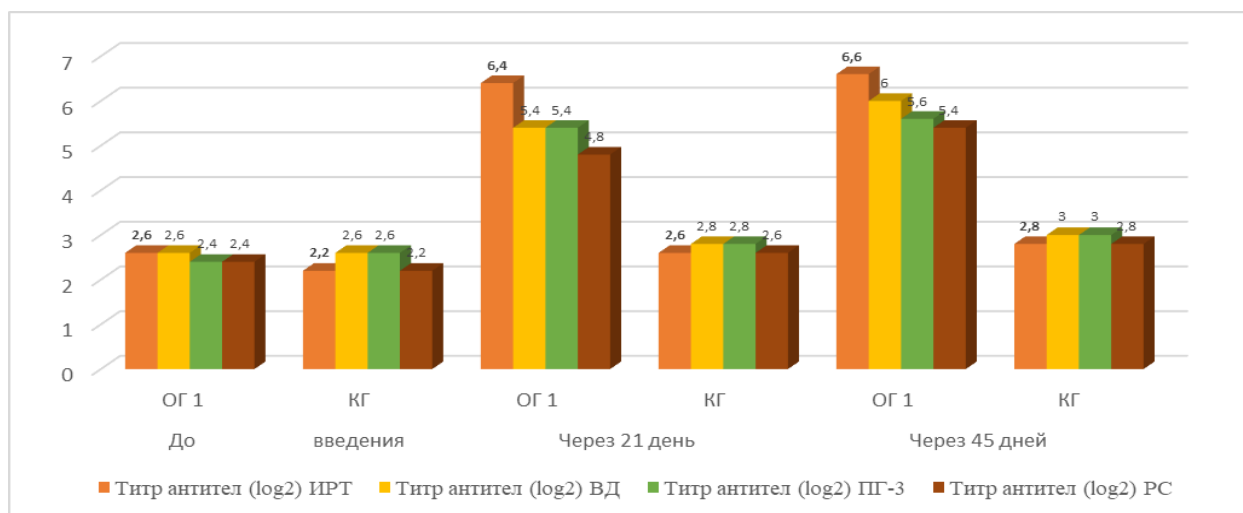


Рисунок 1 – Динамика титров поствакцинальных противовирусных антител у телят при введении вакцины «Пастевир-Р» с адъювантом ISA-61

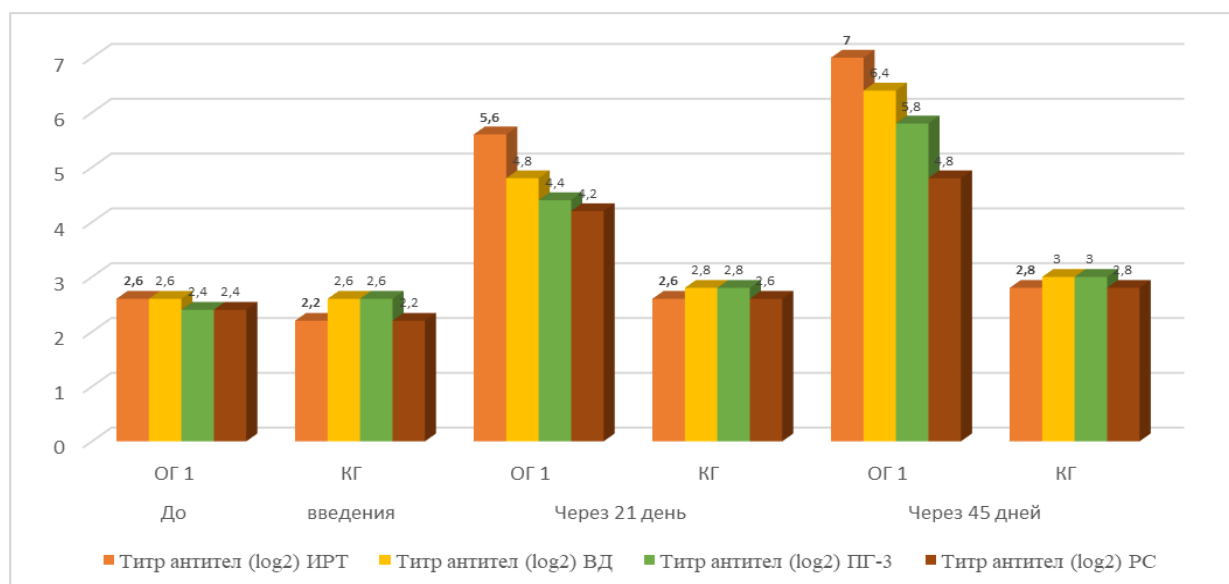


Рисунок 2 – Динамика титров поствакцинальных противовирусных антител у телят при введении вакцины «Пастевир-Р» с адъювантом ISA-201

При применении масляного адъюванта ISA-201 получено повышение титра антител в сыворотках крови телят к 45-му дню к вирусу инфекционного ринотрахеита до значения 7,0 log₂, к вирусу диареи – 6,4 log₂, к вирусу парагриппа-3 – 5,8 log₂, к вирусу респираторно-синцитиальной инфекции – 4,8 log₂.

Результаты поствакцинальных антибактериальных антител при подборе оптимального адъюванта при конструировании поливалентной инактивированной вакцины «Пастевир-Р» против инфекционного ринотрахеита, диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции,

M. haemolytica и *P. Multocida* (серовары А и В) с рекомбинантным штаммом кишечной палочки с геномом РС-вируса показаны на рисунке 3.

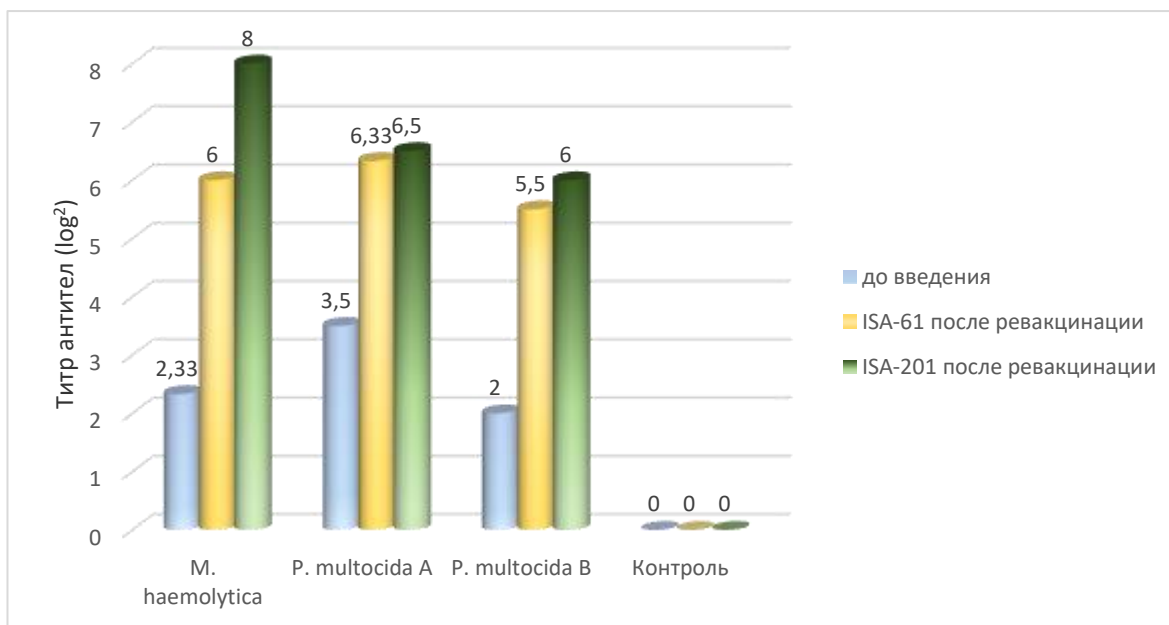


Рисунок 3 – Титры антибактериальных антител у телят при введении вакцины «Пастевир-Р» против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции и пастереллезов с различными адъювантами

При использовании масляного адъюванта ISA-61 получено повышение уровня титра антибактериальных антител в сыворотках крови телят к 45-му дню до значений $6,0 \log_2$ – к *Mannheimia haemolytica*, $6,33 \log_2$ – к *Pasteurella multocida* серовар А, $5,5 \log_2$ – к *Pasteurella multocida* серовар В.

При применении масляного адъюванта ISA-201 наблюдалось повышение уровня антибактериальных антител в сыворотках крови телят к 45 дню опытных групп к *Mannheimia haemolytica* – до $8,0 \log_2$, к *Pasteurella multocida* серовар А – до $6,5 \log_2$, к *Pasteurella multocida* серовар В – до $6,0 \log_2$.

Заключение. Анализируя полученные данные при проведении серологических исследований сывороток крови телят, иммунизированных вакциной «Пастевир-Р» против инфекционного ринотрахеита, диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной инфекции, *M. haemolytica* и *P. multocida* (серовары А и В) с рекомбинантным штаммом кишечной палочки с геномом РС-вируса, установлено, что все исследуемые адъюванты оказывают положительное влияние на синтез специфических антител: инфекционного ринотрахеита до значения $6,66 \pm 0,33 \log_2$ – $7,0 \pm 0,00 \log_2$, к вирусу диареи – $6,0 \pm 0,00 \log_2$ – $6,33 \pm 0,67 \log_2$, вирусу парагриппа-3 – $5,66 \pm 0,67 \log_2$ – $5,66 \pm 0,33 \log_2$, респираторно-синцитиальному вирусу – $4,33 \pm 0,33 \log_2$ – $4,66 \pm 0,33 \log_2$.

При подборе оптимального адъюванта при изготовлении вакцины «Пастевир-Р» более высокие показатели иммуногенности были получены при применении масляного адъюванта Montanidae ISA 201 (Montanidae, Seppic, France) в 50% концентрации: к *Mannheimia haemolytica* – $6,0 \pm 0,58 \log_2$ – $8,0 \pm 0,00 \log_2$, *Pasteurella multocida* серовар А – $6,33 \pm 0,88 \log_2$ – $6,5 \pm 5,0 \log_2$, *Pasteurella multocida* серовар В – $5,5 \pm 0,5 \log_2$ – $6,0 \pm 0,58 \log_2$.

Conclusion. Analyzing the obtained data during serological studies of the blood serum of calves immunized with the Pastevir-R vaccine against infectious rhinotracheitis, diarrhea, parainfluenza-3, respiratory syncytial infection, *M. haemolytica* and *P. multocida* (serovars A and B) with a recombinant strain of *E. coli* with the RS virus genome, it was found that all the studied adjuvants have a positive effect on the synthesis of specific antibodies: infectious rhinotracheitis up to a value of $6.66 \pm 0.33 \log_2$ - $7.0 \pm 0.00 \log_2$, virus to diarrhea virus – $6.0 \pm 0.00 \log_2$ – $6.33 \pm 0.67 \log_2$, parainfluenza-3 virus – $5.66 \pm 0.67 \log_2$ – $5.66 \pm 0.33 \log_2$, respiratory syncytial virus – $4.33 \pm 0.33 \log_2$ – $4.66 \pm 0.33 \log_2$.

When selecting the optimal adjuvant for the production of the Pastevir-R vaccine, higher immunogenicity rates were obtained when using the oil adjuvant Montanidae ISA 201 (Montanidae, Seppic, France) at a 50% concentration: to *Mannheimia haemolytica* – $6.0 \pm 0.58 \log_2$ – $8.0 \pm 0.00 \log_2$, *Pasteurella multocida* serovar A – $6.33 \pm 0.88 \log_2$ - $6.5 \pm 5.0 \log_2$, *Pasteurella multocida* serovar B – $5.5 \pm 0.5 \log_2$ - $6.0 \pm 0.58 \log_2$.

Список литературы.

1. Анализ структуры заболеваемости крупного рогатого скота в Республике Беларусь / П. А. Красочко, П. П. Красочко, М. А. Понаськов [и др.] // *Ветеринарный журнал Беларуси*. – 2022. – №2. – С. 38–41.
2. Генно-инженерные технологии в разработке биопрепаратов для ветеринарии (обзор) / П. А. Красочко, П. П. Красочко, К. В. Колесникович [и др.] // *Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария*. – 2023. – № 2. – С. 29-34. – EDN AQKJKB.
3. Инфекционные болезни животных, регистрируемые в Союзном государстве / П. А. Красочко, Н. И. Гавриченко, О. Ю. Черных [и др.] ; *Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Чеченский государственный университет, Витебская государственная академия ветеринарной медицины*. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2020. – 385 с. – ISBN 978-5-907373-70-9. – EDNNVEVJY.
4. Общая характеристика адъювантов и механизм их действия (часть 1) / Н. А. Алпатова, Ж. И. Авдеева, С. Л. Лысикова [и др.] // *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. – 2020. – Т. 20, № 4. – С. 245-256. – DOI 10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256. – EDN FVCBGM.
5. Семакова, А. П. Адъювантные технологии в создании современных вакцин / А. П. Семакова // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2016. – № 2. – С. 28-35. – DOI 10.21055/0370-1069-2016-2-28-35. – EDNWCDOSP.
6. Al-Aqaby, A. R. Effectiveness of using probiotic batcinel-k® and cevac set-k® vaccine on some blood parameters in chickens / A. R. Al-Aqaby, A. A. Glaskovich, P. A. Krasochko // *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. – 2021. – Vol. 35, No. 4. – P. 611-616. – DOI 10.33899/ijvs.2020.127018.1439. – EDN PLVRSX.
7. Application of Chitosan in Veterinary Vaccine Production / M. A. Frolova, A. V. Grin, E. I. Kovaleva [et al.] // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2018. – Vol. 54, No. 5. – P. 518-521. – DOI 10.1134/S0003683818050034. – EDN YBWQGL.
8. Comparison of four adjuvants revealed the strongest protection against lethal pneumococcal challenge following immunization with PsaA-PspA fusion protein and AS02 as adjuvant / X. Chen, B. Li, J. Yu [et al.] // *Medical Microbiology and Immunology*. – 2019. – Vol. 208(2). – P. 215–226. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00579-9>
9. Comparison of immunological adjuvants / N. H.Trier, E. Güven, K. Skogstrand [et al.] // *Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*. – 2019. – Vol. 127(9). – P. 635-641. DOI:10.1111/apm.12976
10. Johnson, L. Nanotechnology-Based Vaccines for Allergen-Specific Immunotherapy: Potentials and Challenges of Conventional and Novel Adjuvants under Research / L. Johnson // *Vaccines*. – 2020. – Vol. 8(2). – P. 237. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020237>
11. Optical properties of colloidal solutions of metal nanoparticles / P. Krasochko, R. Korochkin, S. Gvozdev, M. Ponaskov // *Науковi горизонти*. – 2020. – Vol. 23, No. 10. – P. 47-53. – DOI 10.48077/scihor.23(10).2020.47-53. – EDN URFTLD.

References.

1. Analiz struktury` zbolevaemosti krupnogo rogatogo skota v Respublike Belarus` / P. A. Krasochko, P. P. Krasochko, M. A. Ponaskov [i dr.] // *Veterinarny` zhurnal Belarusi*. – 2022. – №2. – S. 38–41.
2. Genno-inzhenerny`e texnologii v razrabotke biopreparatov dlya veterinarii (obzor) / P. A. Krasochko, P. P. Krasochko, K. V. Kolesnikovich [i dr.] // *E`pizootologiya, immunobiologiya, farmakologiya i sa-nitariya*. – 2023. – № 2. – S. 29-34. – EDN AQKJKB.
3. Infekcionny`e bolezni zhivotny`x, registriruemy`e v Soyuznom gosudarstve / P. A. Krasochko, N. I. Gavrichenko, O. Yu. Cherny`x [i dr.] ; *Kubanskij gosudarstvenny`j agrarny`j universitet im. I. T. Trubili-na, Chechenskij gosudarstvenny`j universitet, Vitebskaya gosudarstvennaya akademiya veterinarnoj me-diciny`*. – Krasnodar : Kubanskij gosudarstvenny`j agrarny`j universitet imeni I.T. Trubilina, 2020. – 385 s. – ISBN 978-5-907373-70-9. – EDNNVEVJY.
4. Obshhaya xarakteristika ad`yuvantov i mexanizm ix dejstviya (chast` 1) / N. A. Alpatova, Zh. I. Av-deeva, S. L. Ly`sikova [i dr.] // *Biopreparaty`. Profilaktika, diagnostika, lechenie*. – 2020. – T. 20, № 4. – S. 245-256. – DOI 10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256. – EDN FVCBGM.
5. Semakova, A. P. Ad`yuvantny`e texnologii v sozdanii sovremenny`x vakcin / A. P. Semakova // *Problemy` osobo opasny`x infekcij*. – 2016. – № 2. – S. 28-35. – DOI 10.21055/0370-1069-2016-2-28-35. – EDNWCDOSP.
6. Al-Aqaby, A. R. Effectiveness of using probiotic batcinel-k® and cevac set-k® vaccine on some blood parameters in chickens / A. R. Al-Aqaby, A. A. Glaskovich, P. A. Krasochko // *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. – 2021. – Vol. 35, No. 4. – P. 611-616. – DOI 10.33899/ijvs.2020.127018.1439. – EDN PLVRSX.
7. Application of Chitosan in Veterinary Vaccine Production / M. A. Frolova, A. V. Grin, E. I. Kovaleva [et al.] // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2018. – Vol. 54, No. 5. – P. 518-521. – DOI 10.1134/S0003683818050034. – EDN YBWQGL.
8. Comparison of four adjuvants revealed the strongest protection against lethal pneumococcal challenge following immunization with PsaA-PspA fusion protein and AS02 as adjuvant / X. Chen, B. Li, J. Yu [et al.] // *Medical Microbiology and Immunology*. 2019. – Vol. 208(2). – P. 215–226. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00579-9>
9. Comparison of immunological adjuvants / N. H.Trier, E. Güven, K. Skogstrand [et al.] // *Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*. – 2019. – Vol. 127(9). – P. 635-641. DOI:10.1111/apm.12976
10. Johnson L. Nanotechnology-Based Vaccines for Allergen-Specific Immunotherapy: Potentials and Challenges of Conventional and Novel Adjuvants under Research / L. Johnson // *Vaccines*. – 2020. – Vol. 8(2). – P. 237. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020237>
11. Optical properties of colloidal solutions of metal nanoparticles / P. Krasochko, R. Korochkin, S. Gvozdev, M. Ponaskov // *Naukovі горизонти*. – 2020. – Vol. 23, No. 10. – P. 47-53. – DOI 10.48077/scihor.23(10).2020.47-53. – EDN URFTLD.

Поступила в редакцию 12.12.2024.