

УДК: 619 : 084 / 615.371

**В. П. РИЖЕНКО**, доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН

**Г. Ф. РИЖЕНКО**, кандидат біологічних наук

**О. І. ГОРБАТЮК**, кандидат ветеринарних наук

**В. О. АНДРІЯЩУК**, кандидат ветеринарних наук

**О. М. ЖОВНІР, С. М. ТЮТЮН, Н. А. ТЕПЛЮК, П. П. КАМЕНЧУК,**

**Т. М. МАЗИГУЛА, О. В. РУДОЙ, Л. С. МІЛЬКО, М. С.ЮЩЕНКО**

*Інститут ветеринарної медицини НААН (м. Київ)*

## **ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ СПІВВІДНОШЕНЬ АНТИГЕНІВ ПРИ КОНСТРУЮВАННІ АСОЦІЙОВАНИХ ВАКЦИН**

*У статті висвітлені методичні підходи при визначенні оптимальних співвідношень антигенів за створення асоційованих вакцин. На прикладі конструювання асоційованої вакцини «Некросальм» доведено, що за показниками синтезу специфічних антитіл можна визначати оптимальні пропорції антигенів у складному імунобіологічному препараті.*

*Ключові слова: асоційована вакцина «Некросальм», специфічні аглютиніни, концентрація мікробних клітин, співвідношення антигенів, конкуренція антигенів.*

Основним методом профілактики та боротьби із некробактеріозом у тварин залишається застосування вакцинних препаратів, що забезпечує певну стабільність епізоотичної ситуації в Україні [ 1 ].

Відомо, що останнім часом в етіології некробактеріозу (фузобактеріозу), особливо за сучасного стану екології, головну роль відіграють асоціативні патогени, в т.ч. сальмонели. За ускладненого перебігу некробактеріозу, патогенетичний синергізм між асоціантами полягає у поглинанні кисню аеробними представниками мікробної спільноти, що створює сприятливі умови для розвитку анаеробних збудників, зокрема фузобактерій. Метаболіти *F. necrophorum* суттєво пригнічують нейтрофільний фагоцитоз, чим забезпечують захист аеробних мікроорганізмів в асоціації [ 3, 4 ].

Напруженість протинекробактеріозного і протисальмонельозного імунітету тісно пов'язана зі станом захисних та адаптаційних механізмів, представлених сукупністю факторів природної резистентності та гуморальним захистом організму у тварин. Формування гуморальної ланки імунітету переважно залежить від імуногенних властивостей антигенів [5,6]. Тому, при конструюванні нових і удосконаленні існуючих вакцин актуальним залишається питання визначення оптимальних концентрацій мікробних клітин збудників та підбір співвідношень асоціантів для забезпечення високої ефективності вакцинних препаратів.

**Метою** нашої роботи було визначення оптимальних концентрацій представників мікробних спільнот та їх співвідношень для конструювання асоційованої вакцини «Некросальм»; виявити можливу наявність конкуренції фузобактеріозних і сальмонельозних антигенів.

**Матеріал і методи досліджень.** Робота виконана упродовж 2010 – 2013 рр. на базі віваріїв лабораторії анаеробних інфекцій та в умовах експериментальної бази «Пилиповичі» ІВМ НААН України.

У дослідях використано кролів породи сірий велетень, живою масою 2,0 – 2,5 кг по 3 гол. у кожній дослідній групі відповідно. За період проведення досліджень тварини були клінічно здорові. Усі втручання та забій кролів проводили з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Стратсбург, 1995) та ухвали першого наукового конгресу з біоетики (Київ, 2001). Зразки крові для досліджень відбирали з дотриманням біоетичних вимог згідно чинного Закону України “Про захист тварин від жорсткого поводження” від 23. 03. 2006 р.

Для визначення оптимальних концентрацій мікробних клітин в фузобактеріозних і сальмонельозних культурах було виготовлено моновакцини із мікробним навантаженням асоціантів *F. necrophorum* штам «Чернігівський», *S. cholerae suis* штам «Запорізька – 32», *S. typhisuis* штам «ЧК / 144», *S. typhimurium* штам «3 – 96 / 145», *S. enteritidis* штам «Чернігівський» і *S. dublin* штам «ДОН 515/ 146» відповідно по  $1 \times 10^9$ ,  $2 \times 10^9$ ,  $3 \times 10^9$  і  $4 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$ .

Для визначення оптимальних співвідношень фузобактерій та сальмонел було зконструйовано та досліджено три варіанти асоційованої вакцини «Некросальм» у різних пропорціях антигенів.

Визначення та підбір оптимальних концентрацій згаданих збудників та оптимальних співвідношень асоціантів проводили за визначенням рівня специфічних антитіл в сироватках крові щеплених кролів за постановки РА із відповідними антигенами.

За дослідження моновакцин та варіантів асоційованої вакцини «Некросальм» проведено дворазове щеплення кролів з інтервалом 14 діб. Зразки крові для досліджень відбирали на початку експерименту, через 7 і 14 діб за першого та 7, 14 і 28 діб за повторного щеплень.

Статистичну обробку одержаних результатів досліджень проводили із використання програми «Excel-97» для Windows (Т.Ф. Лакін, 1990), із обчисленням середніх значень (М), середньоквадратичних відхилень (m) і порівняльних середніх значень із використанням параметричного t-критерію Стьюдента. Критерій вірогідності визначали по Стьюденту із урахуванням порогу вірогідності від  $P < 0,05$  до  $P < 0,01$  [ 7 ].

**Результати власних досліджень.** Для визначення концентрації фузобактеріозних та сальмонельозних антигенів у кролів за застосування відповідних моновакцин, аналіз одержаних результатів показав, що для *F. necrophorum* оптимальною була концентрація на рівні  $3 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$  так, як за такого вмісту мікробних клітин відмічено найвищий титр специфічних антитіл у сироватці крові щеплених тварин ( табл. 1 ).

Слід зазначити, що у кролів, щеплених відповідними моновакцинами, за постановки РА зі специфічними антигенами, вміст аглютининів мав тенденцію до зростання уже через 7 діб за першого щеплення та тривав до закінчення терміну експерименту, незалежно від мікробного навантаження на  $1,0 \text{ см}^3$  у кожній із згаданих моновакцин. На тлі одержаних результатів щодо рівня специфічних до *F. necrophorum*

антитіл, найвищі титри відмічено через 28 діб за повторного щеплення кролів моновакциною із концентрацією некробактеріозного антигену  $3 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$ . Стосовно сальмонельозних валентностей, то за щеплення кролів відповідними моновакцинами максимальний титр специфічних аглютининів проявлявся через 28 діб за повторного щеплення на фоні  $3 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$  мікробного навантаження стосовно антигенів *S. cholerae suis*, *S. typhisuis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*. За застосування кролям моновакцини *S. dublin* через 28 діб за повторного щеплення тварин найвищі титри специфічних аглютининів було виявлено за концентрації антигену  $4 \times 10^9$  м.т./ $\text{см}^3$ .

Таким чином, концентрації антигенів *S. dublin* на рівні  $4 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$  та *S. cholerae suis*, *S. typhisuis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* на рівні  $3 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$  визнано оптимальними та такі, що забезпечували найвищий рівень синтезу специфічних аглютининів. Тому, при конструюванні асоційованої вакцини «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу тварин виготовляли саме такі концентрації культур.

Нами досліджено три варіанти вакцини «Некросальм» в різних пропорційних співвідношеннях вищезгаданих антигенів. У першому варіанті вакцинного препарату пропорційні співвідношення антигенів були однаковими стосовно некробактеріозного антигену та сальмонельозних валентностей і складали відповідно по 16,7 %.

Другий варіант вакцини зконструйовано у співвідношеннях по 50,0 % некробактеріозного і сальмонельозних антигенів. У свою чергу сальмонельозні валентності у структурі вакцини складали по 10,0 % кожна.

За конструювання третього варіанту вакцини нами враховано всі видові особливості сальмонельозних валентностей а також те, що вакцина призначена для застосування різним видам тварин. Тож третій варіант вакцинного препарату мав співвідношення некробактеріозного та сальмонельозних антигенів по 50,0 % кожного, а серед сальмонельозних представників антиген *S. cholerae suis* у структурі вакцинного препарату складав 15,0 %, *S. typhisuis* – 12,5 % з огляду на те, що згадані збудники за соматичним О – антигеном та джгутиковим Н – антигеном І фази за схемою Кауфмана – Райта мають спільні видові антигенні формули і їх найчастіше виділяють із біоматеріалу від свиней. Приймаючи до уваги те, що збудник *S. typhimurium* досить часто виділяють у свиней та телят, його об'єм у структурі вакцини за третім варіантом складав 12,5 %. Відомо, що у телят збудниками сальмонельозів є *S. enteritidis* та *S. dublin*. Враховуючи, що за Кауфманом – Райтом згадані види сальмонел мають ідентичну антигенну формулу за О – антигеном та джгутиковим Н – антигеном І фази – g, у структурі вакцинного варіанта № 3 їм відведено 10,0 %, тобто, по 5,0 % кожної валентності. Результати досліджень співвідношень фузобактеріозних і сальмонельозних антигенів з урахуванням оптимальних концентрацій асоціантів показано в таблиці 3.

Таблиця 1

Результати визначення оптимальної концентрації антигенів за рівнем титрів специфічних аглютининів у кролів, щеплених моновакцинами збудників-асоціантів вакцини «Некросальм»;  $M \pm m, \log_2, n_{(1-6) \times 4} = 3$

Види збудників та штами	Концентрація антигену, $10^9$ м. т. / $\text{см}^3$	Початок досліду	Після імунізації, через діб				
			першої		повторної		
			7	14	7	14	28
<i>F. necrophorum</i> штаму «Чернігівський»	1,0	–	$1,7 \pm 0,33$	$2,3 \pm 0,33$	$3,0 \pm 0,01$	$3,3 \pm 0,33$	$3,7 \pm 0,33$
	2,0	–	$2,3 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01^{**}$	$4,7 \pm 0,33^{**}$	$5,7 \pm 0,33^{**}$
	3,0	$0,33 \pm 0,01$	$2,3 \pm 0,33$	$3,0 \pm 0,01$	$3,7 \pm 0,33^*$	$4,7 \pm 0,33^{**}$	$6,0 \pm 0,01^{***}$
	4,0	–	$2,3 \pm 0,33$	$2,7 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,33$	$4,3 \pm 0,33^{**}$	$5,3 \pm 0,33^{**}$
<i>S. cholerae suis</i> штаму «Запорізька – 32»	1,0	–	$1,0 \pm 0,33$	$2,0 \pm 0,67$	$2,6 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,33$	$3,7 \pm 0,33^*$
	2,0	–	$1,67 \pm 0,33$	$2,0 \pm 0,01$	$3,7 \pm 0,33^*$	$4,0 \pm 0,01^{**}$	$4,3 \pm 0,33^{**}$
	3,0	–	$2,3 \pm 0,33$	$3,7 \pm 0,33^*$	$4,0 \pm 0,01^{**}$	$4,3 \pm 0,33^{**}$	$5,3 \pm 0,33^{**}$
	4,0	–	$2,3 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01^{**}$	$4,0 \pm 0,01^{**}$	$5,0 \pm 0,01^{**}$
<i>S. typhisuis</i> штаму «ЧК / 144»	1,0	–	$1,3 \pm 0,33$	$2,0 \pm 0,33$	$2,7 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,33$	$3,7 \pm 0,33$
	2,0	–	$2,0 \pm 0,01$	$2,7 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01^*$	$4,3 \pm 0,33^*$
	3,0	–	$2,0 \pm 0,67$	$4,0 \pm 0,01^*$	$4,3 \pm 0,33^*$	$4,7 \pm 0,33^{**}$	$5,3 \pm 0,33^{**}$
	4,0	–	$2,3 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01^*$	$4,0 \pm 0,01^*$	$5,0 \pm 0,01^*$
<i>S. typhimurium</i> штаму «3 – 96 / 145»	1,0	–	$1,7 \pm 0,33$	$3,0 \pm 0,01$	$3,3 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01$	$4,7 \pm 0,33^*$
	2,0	–	$2,0 \pm 0,01$	$2,6 \pm 0,33$	$3,7 \pm 0,33$	$3,7 \pm 0,33$	$5,0 \pm 0,01^*$
	3,0	–	$2,3 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01$	$4,3 \pm 0,33$	$5,3 \pm 0,33^*$
	4,0	–	$2,7 \pm 0,33$	$3,0 \pm 0,01$	$3,7 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01$	$5,3 \pm 0,33^*$
<i>S. enteritidis</i> штаму «Чернігівський»	1,0	–	$2,0 \pm 0,01$	$2,0 \pm 0,01$	$3,0 \pm 0,01$	$3,3 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01$
	2,0	–	$2,0 \pm 0,01$	$2,7 \pm 0,33$	$3,0 \pm 0,67$	$3,7 \pm 0,33$	$4,7 \pm 0,33^*$
	3,0	–	$2,3 \pm 0,33$	$3,0 \pm 0,01$	$3,7 \pm 0,33$	$4,3 \pm 0,33$	$5,7 \pm 0,33^*$
	4,0	–	$2,3 \pm 0,33$	$3,0 \pm 0,01$	$3,7 \pm 0,33$	$4,0 \pm 0,01$	$5,3 \pm 0,33^*$
<i>S. dublin</i> штаму «ДОН 515/ 146»	1,0	–	$1,3 \pm 0,33$	$2,0 \pm 0,01$	$2,7 \pm 0,33$	$3,7 \pm 0,33^*$	$4,0 \pm 0,01^{**}$
	2,0	–	$1,7 \pm 0,33$	$2,3 \pm 0,33$	$3,0 \pm 0,01$	$4,0 \pm 0,01^*$	$4,7 \pm 0,33^{**}$
	3,0	–	$2,0 \pm 0,01$	$3,0 \pm 0,01$	$3,7 \pm 0,33$	$4,3 \pm 0,33^*$	$5,7 \pm 0,33^{**}$
	4,0	–	$2,0 \pm 0,01$	$3,0 \pm 0,01$	$3,7 \pm 0,33$	$4,7 \pm 0,67^*$	$5,7 \pm 0,33^{**}$

Примітка. \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$  за порівняння із показниками у тварин через 7 діб після першого щеплення.

Таблиця 3

Рівень специфічних аглютининів за різних співвідношень фузобактеріозних та сальмонельозних антигенів у структурі асоційованої вакцини «Некросальм»;  $M \pm m, \log_2, n_3 = 3$

Структурні варіанти вакцини			Терміни досліджень після щеплення: через діб		Види та штами асоціантів					
					титри специфічних аглютининів, log <sub>2</sub>					
					<i>F. necrophorum</i> штам «Чернігівський»	<i>S. cholerae suis</i> штам «Запорізька-32»	<i>S. typhisuis</i> штам «ЧК / 144»	<i>S. typhimurium</i> штам «3 – 96 / 145»	<i>S. enteritidis</i> штам «Чернігівський»	<i>S. dublin</i> штам «ДОН 515 / 146»
Концентрація антигену, 10 <sup>9</sup> м. т. / см <sup>3</sup>			3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	4,0		
Варіант № 1	початок		—	—	—	—	—	—		
	перше	7	2,0 ± 0,1	1,7 ± 0,3	2,0 ± 0,1	2,3 ± 0,3	2,7 ± 0,3	1,7 ± 0,3		
		14	3,0 ± 0,1	2,3 ± 0,3	2,3 ± 0,3	4,0 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,3 ± 0,3		
	повтор-не	7	3,3 ± 0,3	3,0 ± 0,1	4,0 ± 0,1	4,3 ± 0,3	4,0 ± 0,1	3,0 ± 0,3		
		14	3,7 ± 0,3	4,0 ± 0,1	4,3 ± 0,3	4,7 ± 0,3	4,0 ± 0,1	3,7 ± 0,3		
		28	4,3 ± 0,3*	4,7 ± 0,3*	5,0 ± 0,1	5,3 ± 0,3	4,7 ± 0,3	5,0±0,3*		
Варіант № 2	початок		—	—	*—	—	—	—		
	перше	7	2,0 ± 0,1	2,3 ± 0,3	2,3 ± 0,3	2,7 ± 0,3	3,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1		
		14	3,0 ± 0,1	3,7 ± 0,3	4,0 ± 0,1	3,7 ± 0,3	3,3 ± 0,3	2,7 ± 0,3		
	повтор-не	7	3,3 ± 0,3	4,0 ± 0,1	4,3 ± 0,3	4,3 ± 0,3	4,0 ± 0,1	3,7 ± 0,3		
		14	4,0 ± 0,1	4,3 ± 0,3	5,0 ± 0,1	5,0 ± 0,1	4,3 ± 0,3	4,3 ± 0,3		
		28	5,0 ± 0,1*	5,3±0,3*	5,7±0,3*	5,7 ± 0,3	5,3 ± 0,3	5,7±,3*		
Варіант № 3	початок		—	—	—	—	—	—		
	перше	7	2,6 ± 0,3	3,0 ± 0,1	3,0 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,7 ± 0,3	2,0 ± 0,1		
		14	3,0 ± 0,1	4,0 ± 0,1	4,0 ± 0,1	4,0 ± 0,1	3,7 ± 0,3	3,0 ± 0,1		
	повторне	7	3,7 ± 0,3	5,0 ± 0,1	4,7 ± 0,3	4,7 ± 0,3	4,0 ± 0,1	3,7 ± 0,3		
		14	4,7 ± 0,3	5,7 ± 0,3	5,3 ± 0,3	5,3 ± 0,3	4,7 ± 0,3	4,3 ± 0,3		
		28	6,3 ± 0,3 **	6,7 ± 0,3 **	6,0 ± 0,3 *	6,0 ± 0,3 *	5,7 ± 0,7 **	6,3 ± 0,3 ***		

Примітка. \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$  за порівняння із показниками у тварин через 7 діб після першого щеплення.

Аналіз результатів досліджень стосовно підбору оптимальних пропорцій фузобактеріозних і сальмонельозних антигенів для конструювання вакцини показав, що варіант вакцини № 3 із пропорцією по 50,0 % антигенів *F. necrophorum* і сальмонел,

виявився найліпшим так, як за щеплення кролів спостерігався активний синтез специфічних антитіл та через 28 діб за повторного щеплення рівень специфічних аглютининів вірогідно зростав в 2,0 – 3,2 рази за порівняння із показниками тварин через 7 діб після першого щеплення ( $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ).

Нами проведено порівняльний аналіз показників рівня специфічних аглютининів за постановки РА із сироватками крові кролів, щеплених відповідними моновакцинами та асоційованою полівалентною вакциною «Некросальм» (варіант № 3) з метою визначення конкуренції антигенів (табл. 4.) За порівняльним аналізом результатів досліджень виявлена відсутність конкуренції фузобактеріозних і сальмонельозних антигенів та сальмонельозних валентностей зокрема в організмі кролів, щеплених моновакцинами та асоційованим вакцинним препаратом «Некросальм» варіант № 3 через те, що рівень специфічних антитіл, стимульованих моновакцинами, був наближено однаковим, а в деяких випадках, навіть дещо вищим у тварин, щеплених асоційованою вакциною «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу. Зокрема, за закінчення експерименту, рівень специфічних до *F. necrophorum* аглютининів у тварин, щеплених асоційованою вакциною «Некросальм», мав переваги проти аналогічних показників у тварин, щеплених моновакцин на 4,8 %. Показники вмісту специфічних антитіл до *S. cholerae suis* зростали на 20,9 %; *S. typhisuis* – на 15,9 %; *S. dublin* – на 9,6 %; *S. typhimurium* – на 11,7 %. Незмінними залишилися титри антитіл, специфічних до *S. dublin*, в сироватці крові щеплених кролів за застосування і асоційованої і моновакцини відповідно.

Отже, за порівняльним аналізом результатів досліджень сироваток крові кролів, щеплених моновалентними та асоційованою вакциною «Некросальм» варіант № 3 із оптимальною концентрацією антигенів *S. dublin* –  $4 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$ , *F. necrophorum*, *S. cholerae suis*, *S. typhisuis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* – по  $3 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$ , в РА встановлена відсутність конкуренції некробактеріозного та сальмонельозних антигенів.

Таблиця 4

Порівняльний аналіз результатів досліджень рівня специфічних аглютининів у кролів, щеплених моновакцинами та асоційованою вакциною «Некросальм»;  $M \pm m$ ,  $\log_2$ ,  $n_{(1-7)} = 3$

Кратність щеплень		Терміни досліджень, через діб	Титри специфічних аглютининів, log <sub>2</sub>											
			моновакцини						асоційована полівалентна вакцина (варіант 3)					
			антигени											
			<i>F. necrophorum</i> штам «Чернігівський»	сальмонельозні					<i>F. necrophorum</i> штам «Чернігівський»	сальмонельозні				
<i>S. cholerae suis</i> штам «Запорізька –32»	<i>S. typhimurium</i> штам «3-96 / 145»	<i>S. typhimurium</i> штам «ЧК / 144»		<i>S. dublin</i> штам «ДОН 515 / 146»	<i>S. enteritidis</i> штам «Чернігівський»	<i>S. cholerae suis</i> штам «Запорізька –32»	<i>S. typhimurium</i> штам «3-96 / 145»	<i>S. typhimurium</i> штам «ЧК / 144»		<i>S. dublin</i> штам «ДОН 515 / 146»	<i>S. enteritidis</i> штам «Чернігівський»			
Початок			0,33 ± 0,01	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Після щеплень	перше	7	2,3 ± 0,33	2,3 ± 0,33	2,3 ± 0,33	2,0 ± 0,01	2,0 ± 0,01	2,3 ± 0,33	2,6 ± 0,33	3,0 ± 0,01	3,0 ± 0,01	3,0 ± 0,01	2,0 ± 0,01	2,7 ± 0,33
		14	3,0 ± 0,01	3,7 ± 0,33	3,3 ± 0,33	4,0 ± 0,01	3,0 ± 0,01	3,0 ± 0,01	3,0 ± 0,01	4,0 ± 0,01	4,0 ± 0,01	4,0 ± 0,01	3,0 ± 0,01	3,7 ± 0,01
	повторне	7	3,7 ± 0,33	4,0 ± 0,01	4,0 ± 0,01	4,3 ± 0,33*	3,7 ± 0,33	3,7 ± 0,33	3,7 ± 0,33	5,0 ± 0,01	4,7 ± 0,33	4,7 ± 0,33	3,7 ± 0,33	4,0 ± 0,01
		14	4,7 ± 0,33 *	4,3 ± 0,33	4,3 ± 0,33	4,7 ± 0,33 **	4,7 ± 0,67 **	4,3 ± 0,33	4,7 ± 0,33	5,7 ± 0,33	5,3 ± 0,33	5,3 ± 0,33 *	4,3 ± 0,33 **	4,7 ± 0,33
		28	6,0 ± 0,01 **	5,3 ± 0,33 *	5,3 ± 0,33 *	5,3 ± 0,33 **	5,7 ± 0,33 ***	5,7 ± 0,33 *	6,3 ± 0,33 **	6,7 ± 0,33 **	6,0 ± 0,33 **	6,0 ± 0,33 **	6,3 ± 0,33 **	6,3 ± 0,33 ***

Примітка. \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$  за порівняння із показниками у тварин через 7 діб після першого щеплення.

### Висновки.

1. Встановлено, що концентрація антигену *S. dublin* на рівні  $4 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$  та антигенів *F. necrophorum*, *S. cholerae suis*, *S. typhisuis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* на рівні  $3 \times 10^9$  м. т. /  $\text{см}^3$  є оптимальними для забезпечення активного синтезу специфічних аглютининів, тому обрані для конструювання асоційованої вакцини «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу тварин.

2. За порівняльним аналізом результатів досліджень сироваток крові кролів, щеплених моновакцинами із культур-асоціантів і зконструйованими варіантами асоційованої вакцини «Некросальм» у різних співвідношеннях антигенів, обрано варіант № 3 вакцинного препарату як такий, що забезпечує активну стимуляцію специфічних антитіл до всіх антигенів у складі цієї вакцини.

3. За постановки РА та порівняльним аналізом показників титрів специфічних антитіл в сироватці крові тварин, щеплених моновакцинами та асоційованою вакциною «Некросальм» варіант № 3 при оптимальній концентрації антигенів *F. necrophorum* і валентностей сальмонел, встановлена відсутність конкуренції некробактеріозного та сальмонельозних антигенів за застосування асоційованого вакцинного препарату.

**Перспективи подальших досліджень.** Здійснити аналогічні дослідження щодо конкуренції антигенів за інших асоційованих вакцин.

### Список використаної літератури

1. Риженко В. П. Експериментальне обґрунтування механізму захисту корів від фузобактеріозу (некробактеріозу) за щеплення вакциною «Некросан» / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – Бюл. № 21. – 2012. – 395 с. – Бібліограф.: С. 32 – 43.

2. Риженко В. П. Стан імункомпетентних клітин периферичної крові овець щеплених проти некробактеріозу та сальмонельозу / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк та ін. // Ветеринарна медицина. – Вип. 95. – 454 с. – Бібліограф.: С. 304 – 308.

3. Жовнір О. М. Експериментальні дослідження факторів природної резистентності у овець за одночасного щеплення проти некробактеріозу та сальмонельозу / О. М. Жовнір, В. О. Андріяшук, С. М. Белік та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – Бюл. № 17. – 2010. – 276 с. – Бібліограф.: С. 76 – 81.

4. Караваев Ю. Д. Иммуногенность различных компонентов бактериальной клетки возбудителя некробактериоза (составление инактивированной вакцины) / Ю. Д. Караваев, И. Н. Семенова, А. К. Мироненко и др. // Науч. основы производства вет. биол. препаратов. – Щелково, 2000. – С. 157 – 158.

5. Evans J. W. Development of enzylinked immunosorbent assays for the detection of *Fusobacterium necrophorum* antibody in animal sera / J. W. Evans, J. N. Berg // Am. j. Veter. Res. – 1985. – Vol. 46. – P. 132 – 135.

6. Панасюк С. Д. Значение ассоциаций микроорганизмов в этиологии заболевания конечностей овец и крупного рогатого скота // Совершенствование



методов госконтроля ветпрепаратов: Тезисы Всесоюз. науч. конф. – М., 1990. – С. 70 – 72.

7. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований / И. А. Ойвин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1960. – № 4. – С. 396 – 401.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ АНТИГЕНОВ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ АССОЦИИРОВАННЫХ ВАКЦИН** / Рыженко В. П., Рыженко Г. Ф., Горбатюк О. И., Андрияшук В. А., Жовнир А. М., Тютюн С. Н., Теплюк Н. А., Каменчук П. П., Мазыгула Т. Н., Рудой А. В., Милько Л. С., Ющенко М. С.

*В статье освещены методические подходы определения оптимальных соотношений антигенов при создании ассоциированных вакцин. На примере конструирования ассоциированной вакцины «Некросальм» показано, что по уровню синтеза специфических антител возможно определение оптимальных пропорций антигенов в сложном иммунобиологическом препарате.*

*Ключевые слова: ассоциированная вакцина «Некросальм», специфические агглютинины, концентрация микробных тел, соотношение антигенов, конкуренция антигенов.*

**DETERMINATION OF OPTIMAL CORRELATIONS OF ANTIGENS AT CONSTRUCTING OF THE ASSOCIATED VACCINES** / Ryzhenko V. P., Ryzhenko G. F., Gorbatyuk O. I., Andriyashuk V. A., Zhovnir A. M., Tyutyun S. N., Teplyuk N. A., Kamenchuk P. P., Mazigula T. N., Rudoy O. V., Milko L. S., Yushchenko M. S.

*In the article methodical approaches of determination of the optimal correlations*

*of antigens are lighted up at creation of the associated vaccines. It is shown on the example of constructing of the associated vaccine of "Nekrosalm", that on the level of synthesis of specific antibodies determination of optimal proportions of antigens is possible in difficult immunobiological preparation.*

*Keywords: associated vaccine "Nekrosalm" specific agglutinins, the concentration of microbial cells, antigen relationship, competition antigens.*

**Рецензент:** кандидат ветеринарных наук **О. А. Тарасов**

Рукопис надійшов 26. 07. 2013р.