

УДК:639:616.981.55

ТЮТЮН С.М., e-mail: anaerobsveta@ukr.net,  
 УХОВСЬКА Т.М., канд. вет. наук, e-mail: tanyavet@ukr.net,  
 ЖОВНІР О.М., канд. вет. наук, e-mail: Zhovnir73@ukr.net,  
 АНДРІЯЩУК В.О., канд. вет. наук, e-mail: and\_valentina@hotmail.com,  
 ГОРБАТЮК О.І., канд. вет. наук, доц., e-mail: goroliva@ukr.net,  
 РИЖЕНКО Г.Ф., канд. біол. наук, доц., e-mail: anaerob12@ukr.net,  
 Інститут ветеринарної медицини НААН

## СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА ТОКСИКОІНФЕКЦІЙ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН, ЩО ВИКЛИКАЮТЬСЯ *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

*У статті наведені результати бактеріологічних досліджень зразків біоматеріалу від птиці та великої рогатої худоби, визначений спектр патогенних мікроорганізмів. У мікробних спільнотах, за асоційованого перебігу бактеріозів у тварин, визначені основні види збудників: C. perfringens, E. coli, Salmonella spp., C. oedematiens, C. septicum, S. aureus. Це свідчить, що при розробці вакцин є необхідність обов'язкового врахування етіологічної структури захворювань. Наведені моно- та асоційовані вакцини для специфічної профілактики токсикоінфекції сільськогосподарських тварин, що викликаються Clostridium perfringens, розроблені лабораторією анаеробних інфекцій IBM.*

**Ключові слова:** специфічна профілактика, анаеробні захворювання, Clostridium perfringens, токсикоінфекції.

**Вступ.** Роль анаеробних інфекцій у природі багатогранна і неоціненна. Вважається, що зародження життя на планеті Земля розпочиналось з анаеробних мікроорганізмів. Вони живуть на глибинах океанів і гарячих джерел, приймають участь у обміні речовин. Значна частина анаеробних мікроорганізмів використовується в промисловості при виробництві вітамінів, органічних кислот, спиртів та інших корисних речовин. Ряд суворих та факультативних анаеробів володіють вираженими патогенними властивостями і здатні викликати тяжкі захворювання у тварин і людини.

Особливої уваги заслуговує профілактика інфекційної патології, зумовленої *C. perfringens*. Наразі відомо, що цей збудник продукує 25 екзотоксинів, з яких 4 летальних. Тому хвороби, що викликають 6 типів *C. perfringens* надзвичайно поширені мають короткий перебіг, часто реєструються як «раптова смерть» або гострі гастроентероколіти невстановленої етіології.

Найбільші втрати від перфрінгіозів спостерігаються у молодняка з перших годин життя до 7–10 діб, коли летальність курчат, поросят, телят може сягати 100%. Токсикоінфекції у людей, зумовлені *C. perfringens*, займають 2–3 місце у розвинутих країнах після сальмонельозних і стафілококових отруєнь [1–3].

Оскільки, у більшості випадків, лікувальна терапія не приносить бажаного ефекту, проблеми специфічної профілактики анаеробних інфекцій

тварин – інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії тварин, некротичного ентериту поросят, анаеробної дизентерії ягнят та ін., останнім часом є особливо актуальними тому, що згадані хвороби набули масового розповсюдження і завдають значних економічних збитків [4].

**Метою роботи** було визначити видовий спектр патогенних мікроорганізмів у мікробних асоціаціях та частоту виділення *Clostridium perfringens*.

**Матеріали і методи досліджень.** Робота виконана у лабораторії анаеробних інфекцій. Упродовж 2017 р проведені бактеріологічні дослідження біологічного матеріалу від тварин з господарств різних регіонів України.

При виділенні ізолятів та ідентифікації мікроорганізмів були застосовані прості живильні середовища – МПА, МПБ, МППБ та диференційно-діагностичні – середовища Гіса, Кітта-Тароцці; середовище МПБ з 10,0% глюкози; МПА з 1,0 % глюкози та 5,0 % інактивованої сироватки крові великої рогатої худоби, середовище з 6,5 та 10,0 % NaCl для диференціації кокових збудників; молоко з метиленовим синім; кров'яний агар; жовтково-сольовий агар; молочно-сольовий агар; спиртово-сироваткове середовище; бульйон Хоттінгера; м'ясо-пептонний желатин з додаванням 10,0 % сироватки крові ВРХ; плазма кроляча цитратна суха для постановки реакції плазмокоагуляції, діагностичні сальмонельозні та ешерихіозні сироватки [5–7].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Токсикоінфекції тварин, що викликаються *C. perfringens* – інфекційна (анаеробна) ентеротоксемія тварин, некротичний ентерит поросят, анаеробна дизентерія ягнят поширені майже в усіх країнах світу.

Анаеробна ентеротоксемія (анаеробна дизентерія – у ягнят, анаеробна ентеротоксемія у поросят і телят) – гостра токсикоз-інфекційна хвороба переважно новонародженого молодняка, яка характеризується геморагічно-некротичним запаленням кишечника, проносом та інтоксикацією організму. Збудник анаеробної ентеротоксемії (дизентерії) ягнят – *C. perfringens* тип С, рідше – В і А; у телят – *C. perfringens* типи А, В, С, Д, Е; анаеробної ентеротоксемії поросят – *C. perfringens* тип С, рідше – А, В, Д.

Анаеробна ентеротоксемія овець характеризується геморагічним ентеритом, нервовими явищами, ураженням нирок і загальною інтоксикацією організму, зумовленою токсинами *C. perfringens* типи А, В, С, Д.

За результатами бактеріологічного моніторингу бактеріозів великої рогатої худоби у тваринницьких господарствах України за 2016 р. частка інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії серед бактеріозів складала 5%, у свиней – 0,4%.

У 2017 р. нами проведені власні бактеріологічні дослідження молока від хворих корів, біологічного матеріалу від загиблої птиці та великої рогатої худоби із 9 господарств п'яти областей України: Донецької, Чернігівської, Полтавської, Київської та Хмельницької (табл. 1).

Таблиця 1

Результати бактеріологічних досліджень, проведених у 2017 р. на базі лабораторії анаеробних інфекцій ім. В. Риженка ІВМ НААН

№ п/п	Назва господарства	№ експертизи	Вид біоматеріалу	Кількість зразків біоматеріалу	Види ізольованих збудників та асоційованих патогенних мікроорганізмів
1.	ТОВ «Брістон-фарм»	1-10	зразки молока	10	1. <i>E. coli</i> ; 2. <i>Staphylococcus spp.</i> 3. <i>Streptococcus spp.</i> ; 4. <i>Diplococcus spp.</i> 5. асоціація: <i>C. perfringens</i> , <i>E. coli</i>
2.	ТОВ «Птахофабрика»	11-15	курчата-бройлери, вік 22 доби	5	1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 2. <i>C. perfringens</i> 3. <i>C. septicum</i> 4. асоціація: <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Diplococcus spp.</i>
3.	ПрАТ «Агрофорт»	16	ВРХ	8	1. <i>Str. pneumoniae</i> 2. <i>E. coli</i> 3. <i>C. perfringens</i>
4.	ТОВ НВП «Брістон-Фарм»	17-21	зразки молока	5	1. <i>Clostridium. perfringens</i> 2. <i>Clostridium oedematiens</i> 3. <i>Streptococcus spp.</i> 4. <i>Staphylococcus spp.</i>
5.	ТОВ «Крамагросвіт»	22	ВРХ	6	1. <i>Streptococcus spp.</i> 2. <i>Staphylococcus spp.</i> 3. <i>Diplococcus spp.</i> 4. <i>Salmonella spp.</i>
6.	ПРАТ «Кремінь»	23	ВРХ	8	1. <i>Streptococcus spp.</i> 2. <i>Klebsiella pneumonia</i> 3. <i>C. perfringens</i> 4. <i>E. coli</i>
7.	ТОВ «Промінь-Приват»	24	ВРХ	4	1. <i>F. necrophorum</i> 2. <i>C. perfringens</i> 3. <i>C. septicum</i> 4. <i>Diplococcus spp.</i> 7. <i>E. coli</i> 8. <i>Klebsiella spp.</i> 9. <i>Staphylococcus spp.</i>
10.	ООО «Агрофірма «Агротіс» філії «Богоявленський»	29	ВРХ	7	1. <i>C. perfringens</i> 2. <i>E. coli</i> 3. <i>C. septicum</i> 4. <i>C. oedematiens</i> 5. <i>Staphylococcus aureus</i> 6. <i>Diplococcus spp.</i>
11.	ТОВ «Агрофірма «Агротіс» філії «Костянтинівка»	30-31	ВРХ	14	1. <i>E. coli</i> 2. <i>Staphylococcus aureus</i> 3. <i>Diplococcus spp.</i> 4. <i>Proteus vulgaris</i> 5. <i>Streptococcus spp.</i>

За результатами бактеріологічних досліджень біологічного матеріалу від сільськогосподарських тварин, птиці та зразків молока був підтверджений асоційований перебіг захворювань, визначений видовий спектр мікроорганізмів у мікробних асоціаціях та частота їхнього виділення (табл. 2).

Таблиця 2

**Видовий спектр патогенних мікроорганізмів, ізольованих із зразків біоматеріалу**

№ п/п	Назва збудника	Виділені польові ізоляти збудників		Видовий спектр асоційованих збудників
		кількість зразків	% до усіх виявлених	
1	<i>E. coli</i>	7	16	асоціація: <i>C. perfringens</i> , <i>E. coli</i> .  асоціація: <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Diplococcus spp.</i>
2	<i>C. perfringens</i>	7	16	
3	<i>Streptococcus spp.</i>	6	13	
4	<i>Diplococcus spp.</i>	6	13	
5	<i>Staphylococcus spp.</i>	5	12	
6	<i>Kl. pneumoniae</i>	2	4	
7	<i>C. septicum</i>	3	8	
8	<i>C. oedematiens</i>	2	4	
9	<i>S. aureus</i>	2	4	
10	<i>Str. pneumoniae</i>	1	2	
11	<i>Salmonella spp.</i>	1	2	
12	<i>F. necrophorum</i>	1	2	
13	<i>Klebsiella spp.</i>	1	2	
14	<i>Pr. vulgaris</i>	1	2	
Всього:		45	100	

За вивчення видового спектру патогенних мікроорганізмів, у мікробних спільнотах за асоційованого перебігу бактеріозів у тварин, визначені основні види збудників, які виділялися: *E. coli*, *C. perfringens*, *Streptococcus spp.*, *Diplococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Kl. pneumoniae*, *C. septicum*, *C. oedematiens*, *S. aureus*, що дає перспективні орієнтири стосовно виготовлення асоційованих інактивованих вакцин проти бактеріальних інфекцій сільськогосподарських тварин для підтримання епізоотичного благополуччя країни.

Враховуючи видовий спектр ізольованих збудників та асоційованих патогенних мікроорганізмів (табл. 2.), частіше всього виділяли *C. perfringens* та *E. coli* по 16% до усіх виявлених збудників. Для специфічної профілактики токсикоінфекцій, що викликаються *C. perfringens*, пропонуються наступні моно- та асоційовані вакцини.

Вакцина «Вельшисан» для профілактики токсикоінфекцій сільськогосподарських тварин, викликаних *C. perfringens*. Вакцина містить розчинні і корпускулярні антигени *C. perfringens* типи А, В, С, Д [8].

Вакцина «Вельшікол» асоційована концентрована інактивована проти колібактеріозу, набрякової хвороби і анаеробної ентеротоксемії тварин.

Вакцина містить розчинні і корпускулярні антигени *E. coli* та *C. perfringens* типи А і С [9].

Вакцина «Вельшіколісан» асоційована інактивована концентрована проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби і колібактеріозу тварин. Вакцина містить розчинні і корпускулярні антигени *C. perfringens* типів А, В, С, Д та *E. coli* [10].

Вакцина «Вельшісальм» – асоційована інактивована концентрована проти анаеробної ентеротоксемії і сальмонельозу тварин, дизентерії ягнят, некротичного ентериту поросят. Вакцина містить розчинні і корпускулярні антигени *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella dublin*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhisuis*, *C. perfringens* типи А, В, С, Д [11].

Вакцина «Вельшіколісальм» асоційована інактивована концентрована проти колібактеріозу, набрякової хвороби, анаеробної ентеротоксемії, сальмонельозу тварин. Вакцина містить розчинні і корпускулярні антигени *E. coli*, (представлені 6 штамми), *Salmonella enteritidis*, *Salmonella dublin*, *Salmonella typhisuis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis*, *C. perfringens* типи А і С [12].

Дані вакцини містять імуномодулюючі компоненти природного походження, які стимулюють синтез антитіл у щепленому організмі, стабілізуючі компоненти з антитоксичними властивостями, завдяки чому відсутня негативна дія препарату на щеплений організм і створена можливість його застосування з лікувальною метою навіть ослабленим і хворим тваринам.

Вакцини характеризуються високою специфічною ефективністю і не мають обмежень для застосування.

За застосування вакцин у період спалаху хвороби загибель тварин скорочується у 3–6 разів.

Щеплення сприяє підвищенню відтворювальної функції самок, стійкості до захворювань, швидкому одужанню новонародженого молодняка. Щеплення тільних корів, кітних вівцематок, поросних свиноматок сприяє запобіганню абортів, мертвонароджень, агалакції, ендометритів, маститів та захворювань телят, ягнят, поросят раннього віку.

Протипоказання щодо застосування вакцин відсутні.

#### **Висновки та перспективи подальших досліджень:**

1. Для специфічної профілактики токсикоінфекцій сільськогосподарських тварин, що викликаються *Clostridium perfringens* та асоційованих з ним інших інфекцій, пропонуються моно- і асоційовані вакцини: «Вельшисан», «Вельшикол», «Вельшиколісан», «Вельшісальм», «Вельшіколісальм».

2. Дослідження з виявлення інших інфекційних захворювань асоційованих з анаеробними токсикоінфекціями, що викликаються *Clostridium perfringens*, продовжуються і будуть використані для розроблення асоційованих інактивованих вакцин проти бактеріальних інфекцій сільськогосподарських тварин для підтримання епізоотичного благополуччя країни.

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Риженко В.П. Обґрунтування біотехнології створення асоційованих вакцин / В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – 2014. – № 24. – С. 198–203.
2. Риженко В.П. Теоретичне і експериментальне обґрунтування розробки нових вакцин / В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – 2008. – № 13 (1). – С. 51–62.
3. Андрейчин М.А. Біотероризм. Медична протидія / М.А. Андрейчин, В.С. Копча: Під ред. В. Юкало// – Тернопіль.: «Укрмедкнига», 2005. – С. 272–276.
4. Науково-виробниче співробітництво з питань профілактики анаеробних та змішаних інфекцій / В.П. Риженко, С.А. Ничик, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк та ін. // Київ: Друк «ЦП КОМПРИНТ», 2013. – 18с.
5. Медицинская микробиология: учебник для вузов / О.К. Поздеев: Под ред. акад. РАМН В.И. Покровского. – Москва: «ГЭОТАР–МЕД», 2001. – С. 317–342.
6. Загальні методи мікробіологічних досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини / В.М. Івченко, Г.М. Денисенко, В.В. Шарандак та ін. // Методичні рекомендації. – Біла Церква, 2003. – 64 с.
7. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине: Справочное пособие / А. Н. Головка, В. А. Ушкалов, В. Г. Скрыпник и др.; под ред. А.Н. Головка. – Харьков: «НТМТ», 2007. – 512 с.
8. Патент України на корисну модель № 65816. Вакцина „Вельшисан” для профілактики токсикоінфекцій сільськогосподарських тварин викликаних *Clostridium perfringens* // Риженко В.П., Риженко В.В., Акименко Л.І. / 7А61К39/08. Заявлено 30.05.2004. Опубл. 15.04.2004. Бюл. №4.
9. Патент України на корисну модель № 12936. Вакцина «Вельшікол» асоційована інактивована концентрована проти колібактеріозу, набрякової хвороби і анаеробної ентеротоксемії тварин // Риженко В.П., Риженко В.В., Ображей А.Ф. / МПК (2006): А61К39/116, А61К39/08, А61К39/108. Заявлено 15.03.2006. Опубл. 15.03.2006. Бюл. №3.
10. Патент України на корисну модель № 75304. Вакцина «Вельшіколісан» асоційована інактивована концентрована проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин // Риженко В.П., Ничик С.А., Риженко Г.Ф., Горбатюк О.І. та ін. / МПК (2012): А61К9/08, А61К31/115. Заявлено 23.05.2012. Опубл. 26.11.2012. Бюл. №22.
11. Патент України на корисну модель № 12937. Вакцина „Вельшісальм” асоційована інактивована концентрована проти анаеробної ентеротоксемії і сальмонельозу тварин, дизентерії ягнят, некротичного ентериту поросят // Риженко В.П., Риженко В.В. / МПК (2006): А61К39/116, А61К39/08, А61К39/112. Заявлено 25.06.2005. Опубл. 15.03.2006. Бюл. №3.
12. Патент України на корисну модель № 12941. Вакцина «Вельшіколісальм» асоційована інактивована концентрована проти колібактеріозу, набрякової хвороби, анаеробної ентеротоксемії, сальмонельозу тварин // Дементьєва С.А., Риженко В.В., Риженко В.П., Риженко Г.Ф. / МПК (2006): А61К39/116, А61К39/08, А61К39/108, А61К39/112. Заявлено 25.06.2005. Опубл. 15.03.2006. Бюл. №3.

**СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ CLOSTRIDIUM PERFRINGENS** / Тютюн С.Н., Уховская Т.Н., Жовнир А.М., Андрияшук В.А., Горбатюк О.И., Рыженко Г.Ф.

*В статье приведены результаты бактериологических исследований биоматериала от птиц и крупного рогатого скота. Определен видовой спектр патогенных микроорганизмов: C. perfringens, E. coli, Salmonella spp., C. oedematiens, C.septicum, S. aureus.*

Это свидетельствует о том, что при разработке вакцин необходимо учитывать этиологические структуры заболеваний, что будет использовано при дальнейших разработках ассоциированных вакцин для профилактики токсикоинфекций, вызываемые *Clostridium perfringens*.

**Ключевые слова:** специфическая профилактика, анаэробные заболевания, *Clostridium perfringens*, токсикоинфекции.

**SPECIFIC PREVENTION OF FARM ANIMALS TOXIC INFECTIONS CAUSED BY CLOSTRIDIUM PERFRINGENS** / Tiutiu S.N., Ukhovska T.N., Zhovnir A.M., Andriyashchuk V.A., Gorbatiuk O.I., Ryzhenko G.F.,

**Introduction.** At mixed animal's bacteriosis, in microbial communities *C. perfringens*, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *C. oedematiens*, *C. septicum*, *S. aureus* pathogens have been identified as the main pathogens species. Particular attention should be paid to the prevention of infectious diseases caused by *C. perfringens*. Therefore, diseases caused by 6 types of *C. perfringens* are extremely common and have a short course.

Since in most cases, therapeutic therapy does not show expected effect, the issues of specific prevention of animal's anaerobic infections: infectious (anaerobic) enterotoxemia of animals, necrotic enteritis of pigs, anaerobic dysentery of lambs, etc., are especially relevant in recent years since these diseases have become widespread and cause significant economic loss.

**The goal of the work** was to determine the species spectrum of pathogenic microorganisms in microbial associations and the frequency of *Clostridium perfringens* isolation.

**Materials and methods.** The researches were performed in the V. Ryzhenko laboratory of anaerobic infections of the IVM of the NAAS. In 2017, bacteriological studies of animals biomaterial from farms of different oblasts of Ukraine were carried out. General approaches for the research were used to study isolates and microorganisms identification.

**Results of research and discussion.** According to the results of bacteriological studies of biomaterial from farm animals, poultry and milk samples, the associated course of diseases was confirmed.

When studying the species spectrum of pathogenic microorganisms in animals microbial mixed bacteriosis, the main pathogens species isolated and identified were (% of all detected): *E. coli* – 16, *C. perfringens* – 16, *Streptococcus spp.* – 13, *Diplococcus spp.* – 13, *Staphylococcus spp.* – 12, *C. septicum* – 8, *C. oedematiens* – 4, *S. aureus* – 4, *Str. Pneumonia* – 2, *Salmonella spp.* – 2, *F. necrophorum* – 2, *Klebsiella spp.* – 2, *Pr. vulgaris* – 2.

Given the species spectrum of isolated pathogens and associated pathogenic microorganisms, *C. perfringens* and *E. coli* were isolated more often, therefore the following mono- and associated vaccines are offered for specific prevention of toxic infections caused by *C. perfringens*: “Velshisan”, “Velshikol”, “Velshikolisan”, “Velshisalm”, “Velshikolisalm”.

Determination of the species spectrum of pathogenic microorganisms isolated from samples of biomaterials provides promising perspectives for the development of associated inactivated vaccines against bacterial infections of farm animals to maintain epizootic well-being of the country.

**Conclusion and prospects further research:**

1. For specific prophylaxis of the toxic diseases of farm animals caused by *Clostridium perfringens* and other infections associated with it mono- and associated vaccines are offered to apply: “Velshisan”, “Velshikol”, “Velshikolisan”, “Velshisalm”, “Velshikolisalm”.

2. Studies on the identification of the other infectious diseases associated with anaerobic toxic infections caused by *Clostridium perfringens* continuing and will be used to develop associated inactivated vaccines against bacterial infections of farm animals to maintain the epizootic well-being of the country.

**Keywords:** specific prevention, anaerobic diseases, *Clostridium perfringens*, toxicoinfections.

REFERENCES

1. Ryzhenko V. P. (2014). Obg'runtuvannja biotehnologii' stvorennja asocijovanyh vakcyn [Substantiation of biotechnology for the production of associated vaccines] *Veterynarna biotehnologija – Veterinary biotechnology*, 24, 198-203 [in Ukrainian].
2. Ryzhenko, V.P., Ryzhenko, G.F., Gorbatjuk, O.I. [et al.]. (2008). Teoretyчне i eksperymental'ne obg'runtuvannja rozrobky novyh vakcyn [Theoretical and experimental substantiation of the development of new vaccines]. *Veterynarna biotehnologija – Veterinary biotechnology*, 13(1), 51-53 [in Ukrainian].
3. Andrejchyn, M.A., & Kopcha, V.S. (2005). *Bioteroryzm. Medychna protydyja [Bioterrorism. Medical counteraction]*. V. Jukalo (Ed.). Ternopil: Ukrmedknyga [in Ukrainian].
4. Ryzhenko, V.P., Nychyk, S.A., Ryzhenko, G.F., Gorbatjuk O.I. et al. (2013). *Naukovo-vyrobnyche spivrobotnyctvo z pytan' profilaktyky anaerobnyh ta zmishanyh infekcij [Scientific-production cooperation on prevention of anaerobic and mixed infections]*. Kyi'v: Druk "СР КОМПРЫНТ" [in Ukrainian].
5. Pozdeev, O.K. (2008). *Medycinskaia mikrobiologija: uchebnoe posobie [Medical microbiology: manual]*. I.V. Pokrovskii (Ed.). M.: GEOTAR-Media [in Russian].
6. Ivchenko, V.M., Denysenko, G.M., Sharandak, V.V. et al. (2003). Zagal'ni metody mikrobiologichnyh doslidzhen' u laboratorijah veterynarnoi' medycyny [General methods in microbiology laboratories of veterinary medicine]. *Guidelines*. Bila Cerkva [in Ukrainian].
7. Golovko, A.N., Ushkalov, V.A., Skrypnik, V.G. et al. (2007). A.N. Golovko (Ed.). *Mikrobiologicheskie i virusologicheskie metody issledovanij v veterinarnej medicine: Spravochnoe posobie [Microbiological and Virological Methods of Research in Veterinary Medicine]*. Handbook. Kharkov: NTMT [in Russian].
8. Ryzhenko, V.P., Ryzhenko, V.V., Akymenko, L.I. Vakcyna "Vel'shysan" dlja profilaktyky toksykoinfekcij sil'skogospodars'kyh tvaryn vyklykanyh *Clostridium perfringens* [Velshisan Vaccine for the Prevention of Toxic Infections in Farm Animals Caused by *Clostridium perfringens*]. *Patent UA for utility model* no. 65816. MPK (2004): 7A61K39/08. From 15.04.2004 [in Ukrainian].
9. Ryzhenko, V.P., Ryzhenko, V.V., Obrazhej, A.F. Vakcyna "Vel'shikol" asocijovana inaktyvovana koncentrovana proty kolibakteriozu, nabrjakovoi' hovoroby i anaerobnoi' enterotoksemii' tvaryn [Vaccine "Velshikol" multivalent inactivated concentrated vaccine against colibacteriosis, edema and anaerobic enterotoxemia of animals]. *Patent UA for utility model* no. 12936. MPK (2006): A61K39/116, A61K39/08, A61K39/108. From 15.03.2006 [in Ukrainian].
10. Ryzhenko, V.P., Nychyk, S.A., Ryzhenko, G.F., Gorbatjuk, O.I. et al. Vakcyna "Vel'shikolisan" asocijovana inaktyvovana koncentrovana proty anaerobnoi' dyzenterii' molodnjaka, infekcijnioi' enterotoksemii', nabrjakovoi' hovoroby, kolibakteriozu tvaryn [Vaccine "Velshikolisan" multivalent inactivated concentrated vaccine against anaerobic dysentery of young animals, infectious enterotoxemia, edema, colibacillosis of animals]. *Patent UA for utility model* no. 75304. MPK (2012): A61K9/08, A61K31/115. From 26.11.2012 [in Ukrainian].
11. Ryzhenko, V.P., Ryzhenko, V.V. Vakcyna "Vel'shisal'm" asocijovana inaktyvovana koncentrovana proty anaerobnoi' enterotoksemii' i sal'monel'ozu tvaryn, dyzenterii' jagnjat, nekrotychnogo enterytu porosjat [Vaccine "Velshisalm" multivalent inactivated concentrated vaccine against anaerobic enterotoxemia and animal salmonellosis, dysentery of lambs, necrotic enteritis of piglets]. *Patent UA for utility model* no. 12937. MPK (2006): A61K39/116, A61K39/08, A61K39/112. From 15.03.2006 [in Ukrainian].
12. Dement'jeva, S.A., Ryzhenko, V.V., Ryzhenko, V.P., Ryzhenko, G.F. Vakcyna "Vel'shikolisal'm" asocijovana inaktyvovana koncentrovana proty kolibakteriozu, nabrjakovoi' hovoroby, anaerobnoi' enterotoksemii', sal'monel'ozu tvaryn [Vaccine "Velshikolisalm" multivalent inactivated concentrated vaccine against colibacteriosis, edema, anaerobic enterotoxemia, animal's salmonellosis]. *Patent UA for utility model* no. 12941. MPK (2006): A61K39/116, A61K39/08, A61K39/108, A61K39/112. From 15.03.2006 [in Ukrainian].