

Эффективность применения вакцины против некробактериоза животных УНГОВАК-FN

Е. В. Шемельков^{1✉}, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по производству и инновациям,

Е. В. Иванов¹, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник

Т. И. Алипер¹, доктор биологических наук, профессор, председатель совета директоров

¹ООО «Ветбиохим» (109316, г. Москва, Волгоградский проспект, д. 42, этаж 12)

✉ shemelkov@mail.ru

Резюме. Работу проводили с целью изучить безвредность, антигенную активность и эффективность вакцины УНГОВАК-FN, сконструированной на основе полисахаридного адьюванта растительного происхождения, в условиях животноводческих хозяйств Московской области, неблагополучных по некробактериозу. В хозяйствах вакцинировали клинически здоровых животных и коров с явной клинической картиной некробактериоза. Вакцину вводили внутривенно в дозе 0,4 мл трехкратно с интервалом 10 суток. Контролем служили клинически здоровые и больные невакцинированные животные. Вакцинация клинически здоровых животных, при соблюдении соответствующих ветеринарно-санитарных и зооигиенических правил их содержания, позволила снизить заболеваемость в 5,9 раза по сравнению с невакцинированными животными. Протективный эффект после трехкратной вакцинации сохранялся не менее 7...8 мес. Вакцинация животных, с явной клинической картиной некробактериоза, в комплексе с другими лечебными мероприятиями способствовала увеличению количества выздоровлений на 18,9 %, при этом лечение больных животных сокращалось на 9,5 суток (более чем в два раза). Кроме того, было установлено, что вакцина УНГОВАК-FN является безопасным препаратом, который не вызывает развития существенных общих и местных нежелательных поствакцинальных реакций у животных.

Ключевые слова: полисахаридный адьювант, вакцина, некробактериоз, экзогенные и эндогенные токсины, эффективность вакцинации.

Для цитирования: Шемельков Е. В., Иванов Е. В., Алипер Т. И. Эффективность применения вакцины против некробактериоза животных УНГОВАК-FN // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2024. №2 (66). С. 149-155. doi:10.18286/1816-4501-2024-2-149-155

Efficiency of UNGOVAK-FN vaccine against animal necrobacteriosis

E. V. Shemelkov[✉], E. V. Ivanov, T. I. Aliper

ООО Vetbiohim

109316, Moscow, Volgogradsky Ave., 42, floor 12

✉ shemelkov@mail.ru

Abstract. The work was carried out to study the safety, antigenic activity and effectiveness of UNGOVAK-FN vaccine, constructed on the basis of a polysaccharide adjuvant of plant origin, in the conditions of Moscow region livestock farms, affected by necrobacteriosis. Clinically healthy animals and cows with an obvious clinical picture of necrobacteriosis were vaccinated on the farms. The vaccine was administered intradermally at a dose of 0.4 ml three times with an interval of 10 days. Clinically healthy and sick unvaccinated animals served as control. Vaccination of clinically healthy animals, subject to the appropriate veterinary, sanitary and zoo-hygienic rules for keeping them, reduced the incidence of disease by 5.9 times compared to unvaccinated animals. The protective effect after triple vaccination lasted for at least 7-8 months. Vaccination of animals with a clear clinical picture of necrobacteriosis, in combination with other therapeutic measures, contributed to an increase in the number of recoveries by 18.9 %, while the treatment of sick animals was reduced by 9.5 days (more than twice). In addition, it was found that the UNGOVAK-FN vaccine is a safe medication that does not cause development of significant general and local adverse post-vaccination reactions of animals.

Keywords: polysaccharide adjuvant, vaccine, necrobacteriosis, exogenous and endogenous toxins, vaccination effectiveness.

For citation: Shemelkov E. V., Ivanov E. V., Aliper T. I. Efficiency of UNGOVAK-FN vaccine against animal necrobacteriosis // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2024;2(66): 149-155 doi:10.18286/1816-4501-2024-2-149-155

Введение

Некробактериоз – инфекционная, достаточно контагиозная болезнь, получившая практически ubicвитарное распространение, широта которого зависит от условий содержания животных. Для

некробактериоза характерны поражения внутренних органов, слизистых оболочек и кожи, особенно в области конечностей [1, 2].

Возбудитель болезни – грамотрицательные бактерии *Fusobacterium necrophorum*, являющиеся строгим анаэробом [1, 3].

Проникая в организм, возбудитель некробактериоза начинает размножаться, выделяя различные экзогенные и эндогенные токсины, включая лейкотоксины (разрушающие иммунокомпетентные клетки), а также некротоксин, гемолизин, цитоплазматические и другие токсины, которые способствуют гнойно-некротическому поражению тканей и развитию воспаления [1, 4, 2].

В целях обеспечения благополучия хозяйства по некробактериозу наряду с соблюдением комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий необходимо проводить специфическую профилактику болезни. Для этого предложены несколько отечественных инактивированных вакцин против некробактериоза животных, изготовленных из разных штаммов *F. Necrophorum*, имеется так же ряд ассоциированных вакцинных препаратов [5, 6, 7, 8].

Основную роль в развитии иммунитета к возбудителю некробактериоза играют не цельные клетки *F.necrophorum*, а различные экзогенные и эндогенные токсины, продуцируемые данным микроорганизмом. Поэтому вакцинные препараты для профилактики некробактериоза целесообразно конструировать не из бактериальных клеток, а из белковых компонентов (включая экзогенные и эндогенные токсины) *F. necrophorum* [5, 3, 8, 9, 10, 11].

Другим важным компонентом любой инактивированной вакцины является эффективный с иммунологической точки зрения и безопасный адъювант, который способен повысить антигенную и иммуногенную активность препарата, не оказывая негативного влияния на его безопасность [12, 13, 14, 15].

Цель исследований: изучить безвредность, антигенную активность и эффективность вакцины УН-ГОВАК-FN в условиях животноводческих хозяйств, неблагополучных по некробактериозу.

Материалы и методы

Антигенами для вакцины служили белковые компоненты, которые при культивировании выделяет *F. necrophorum* в питательную среду (в том числе и экзогенные токсины) и белковые компоненты, которые образуются при разрушении клеток *F. necrophorum* (в том числе и эндогенные токсины).

Выращивание культуры *F. necrophorum* проводили в анаэробных условиях. Бактериальные клетки осаждали методом центрифугирования, после чего разрушали и избавлялись от остатков клеточных стенок.

Экзогенные белки (из супернатанта питательной среды после культивирования *F. necrophorum*) и эндогенные белки (после разрушения бактериальных клеток) концентрировали последовательным осаждением сернокислым аммонием и полиэтиленгликолем.

На предварительном этапе были проведены исследования по оценке антигенной активности

экспериментальной вакцины при включении в ее состав следующих адъювантов:

- минеральное масло PIONIER 7028 P с добавлением сурфактанта M888;
- гидроокись алюминия (ГОА);
- полисахаридный адъювант (ПСА) растительного происхождения (выделенный из бурых морских водорослей).

При этом для экспериментального образца вакцины, изготовленного на основе ПСА, были испытаны следующие способы введения:

- двукратно, внутримышечно, в дозе 2 мл;
- двукратно, внутрикожно, в дозе 0,4 мл;
- трехкратно, внутрикожно, в дозе 0,4 мл.

Сравнительную оценку экспериментальных образцов проводили в опыте на телятах по показателям безвредность и антигенная активность.

В ходе проведенных исследований по совокупности факторов в качестве наиболее перспективного адъюванта для новой вакцины был выбран ПСА, выделенный из бурых морских водорослей. При этом наиболее эффективным с точки зрения синтеза поствакцинальных антител был трехкратный (с интервалом 7 суток) внутрикожный способ введения вакцины в дозе 0,4 мл.

Для дальнейших исследований изготовили экспериментальную вакцину на основе экзогенных и эндогенных белковых компонентов *F.necrophorum* с использованием указанного адъюванта.

Оценку антигенной активности экспериментальной вакцины проводили на лабораторной (кролики массой 2,5...3,5 кг) и естественно-восприимчивой (телята в возрасте 45...60 суток) моделях животных.

Использовали две опытные группы кроликов (n=5 в каждой), которых вакцинировали однократно, первую группу – внутримышечно, в дозе 2,0 мл, вторую группу – внутрикожно, в дозе 0,2 мл. В качестве контроля использовали группу неиммунизированных кроликов (n=3).

Телят (n=12) вакцинировали внутрикожно в дозе 0,4 мл трехкратно с интервалом 10 суток. Кровь брали до (D0) и через 21 сутки после третьей вакцинации (D21/3). В качестве контроля использовали группу животных (n=5), вакцинацию которых не проводили.

Уровень специфических антител определяли в РА и методом непрямого ИФА. В ИФА исследовали двукратные последовательные разведения проб сыворотки крови кроликов (начиная с разведения 1:25) и телят (начиная с разведения 1:50). При проведении ИФА в качестве подложки для наслоения на иммунологические планшеты использовали сконцентрированные и очищенные эндогенные белки *F.necrophorum*, а также соответствующие антивидовые конъюгаты, меченные пероксидазой хрена. В качестве положительного и отрицательного контроля использовали предварительно полученные и охарактеризованные пробы сыворотки крови

соответствующего вида животного «положительную» и «отрицательную» по антителам к *F. necrophorum*.

Безвредность вакцины оценивали путем изучения общего состояния вакцинированных животных, а также изменений на месте введения вакцины. Кроме того, вакцинировали четырех телят внутрикожно в дозе 0,4 мл. Через 24, 48, 72 и 120 ч. произвели убой животных с последующим вскрытием и оценкой возможных местных и системных отклонений, вызванных введением вакцины.

Оценку эффективности применения вакцины проводили в животноводческих хозяйствах, неблагополучных по некробактериозу. Вакцинировали клинически здоровых и больных (с явными признаками поражения конечностей) животных, внутрикожно в дозе 0,4 мл трехкратно с интервалом 10 суток. Контролем служили клинически здоровые и больные невакцинированные животные.

Одновременно с вакцинацией проводили комплекс организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на полное оздоровление хозяйства от некробактериоза.

Эффективность применения вакцины в производственных условиях оценивали по уровню защищенности вакцинированных клинически здоровых животных от заболевания некробактериозом, по снижению заболеваемости среди больных вакцинированных животных, а также сравнивая продолжительность лечения вакцинированных и невакцинированных животных.

Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами с использованием компьютерных программ Microsoft Office Excel 2019 и статистических онлайн-калькуляторов [<https://math.semestr.ru>, <https://medstatistic.ru>].

Результаты

Результаты изучения антигенной активности вакцины на лабораторной и естественно-восприимчивой моделях животных показали, что она обладает выраженными антигенными свойствами, индуцируя формирование напряженного гуморального иммунного ответа к возбудителю *F. necrophorum* (табл. 1).

Однократная внутримышечная вакцинация кроликов сопровождалась выработкой специфических антител к *F. necrophorum*, выявляемых в РА (1:42) и методом ИФА (1:100). Уровень антител у кроликов при однократной внутрикожной вакцинации был ниже – 1:28 и 1:76 в РА и в ИФА соответственно, $p < 0,05$.

В опыте на телятах была установлена высокая антигенная активность испытуемой вакцины, трехкратное внутрикожное введение которой стимулировало синтез поствакцинальных антител на уровне 1:91 в РА и 1:643 в ИФА.

Таблица 1. Антигенная активность экспериментальной вакцины

Вид и статус животного	Уровень антител			
	В РА		В ИФА	
	Д0	Д21	Д0	Д21/3
Кролики, вакцинированные в/м	<4	42	<25	100
Кролики, вакцинированные в/к	<4	28	<25	76
Кролики, контрольная группа	<4	<4	<25	<25
Телята, вакцинированные в/к	<4	91	<50	643
Телята, контрольная группа	<4	<4	<50	<50

* приведены средние геометрические значения титров антител, выраженные в обратных величинах.

По всей видимости, высокий уровень антительного ответа на трехкратную внутрикожную вакцинацию телят связан с тем, что в эпидермальном слое кожи присутствует значительное количество дендритных клеток, которые являются эффективными антигенпрезентирующими клетками. Поэтому внутрикожное введение меньших доз антигена, связанного с полисахаридным адъювантом, является достаточным для развития полноценного иммунного ответа.

Изучение безвредности показало, что трехкратная вакцинация телят не вызывает значительных общих и местных реакций у привитых животных. У отдельных животных в месте инъекции образовывались безболезненные ограниченные припухлости, проходящие самостоятельно.

При убое и вскрытии телят через 24, 48, 72 и 120 ч. было установлено следующее. У телят, забитых через 24 и 48 ч., была выявлена незначительная гиперемия и припухлость регионарных лимфатических узлов. Иных отклонений со стороны органов лимфатической системы, а также других органов выявлено не было. У телят, забитых через 72 и 120 ч., каких-либо отклонений от физиологической нормы выявлено не было. Проведенный опыт показал безвредность разработанной вакцины и позволил не устанавливать ограничений на использование продуктов уоя после вакцинации.

Производственные испытания вакцины показали, что препарат обладает высокой, как профилактической, так и лечебной эффективностью в отношении некробактериоза, таблицы 2 и 3.

В среднем заболеваемость вакцинированных животных составила 2,3 %, выздоровление больных наступило в 95,1 % случаев, продолжительность лечения составила 7 суток. Аналогичные показатели среди контрольных (невакцинированных) животных составили: заболеваемость – 13,7 %, выздоровление больных наступило в 74,5 % случаев, а средняя продолжительность лечения составила 16,5 суток (рис. 1).

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки)

Таблица 2. Результаты испытаний в опыте на клинически здоровых животных

Хозяйство	Группа животных	Вакцинация	Кол-во животных, гол		Уровень защищенности, %
			вакцинировано	заболело	
№1	Опытная	+	477	9	98,1
	Контрольная	-	206	17	91,7
№2	Опытная	+	645	17	97,4
	Контрольная	-	627	119	81,0

Таблица 3. Результаты испытаний в опыте на больных животных

Хозяйство	Группа животных	Вакцинация	Химиотерапевтическое лечение и ветсан обработка	Кол-во животных, гол		Средняя продолжительность лечения, сут
				использовано в опыте	выздоровело	
№1	Опытная	+	+	54	51	7
	Контрольная	-	+	32	19	12
№2	Опытная	+	+	114	110	7
	Контрольная	-	+	87	78	21

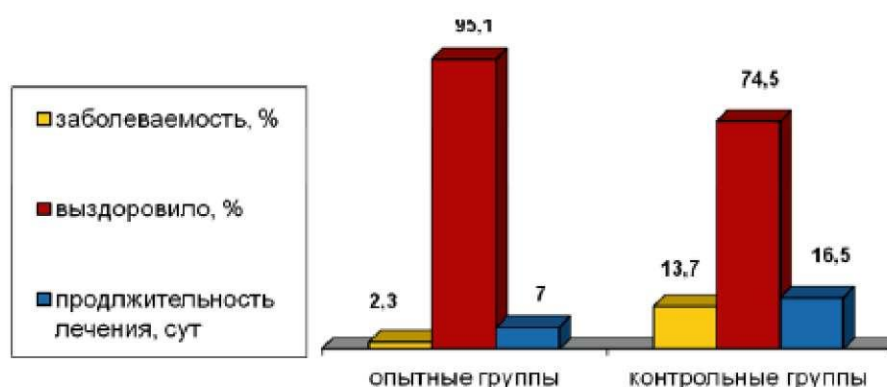


Рис. 1. Эффективность применения вакцины против некробактериоза в условиях неблагополучного хозяйства (средние данные по двум хозяйствам)

Таким образом, заболеваемость вакцинированных животных была ниже в 5,9 раза, чем в контрольных группах животных среди здорового поголовья. Кроме того, вакцинация животных с признаками некробактериоза способствовала наступлению выздоровлению на 18,9 % случаев больше по сравнению с группами невакцинированных животных, при этом продолжительность лечения сократилась в 2,4 раза.

За вакцинированными животными наблюдали в течение 12 мес. Через 9...10 мес. после проведения третьей вакцинации у отдельных здоровых вакцинированных животных стали появляться признаки поражения копыт тазовых конечностей. Проведение трехкратной ревакцинации животных с одновременным проведением ветеринарно-санитарных мероприятий позволило решить данную проблему. Вследствие этого было сделано заключение о том, что профилактический эффект от применения разработанной вакцины сохраняется в течение 7...8 мес. после третьего введения препарата.

В ходе дальнейших исследований был проведен весь комплекс испытаний в рамках доклинических и клинических исследований вакцины, результатом которых стала регистрация нового препарата, получившего название – вакцина инактивированная против некробактериоза животных УНГОВАК-FN.

Обсуждение

Основными факторами патогенности *F. necrophorum* являются различные экзогенные и эндогенные токсины, которые выделяет этот возбудитель [8, 9, 16, 17]. Они играют ведущую роль в развитии иммунитета в отношении возбудителя некробактериоза [18, 19] Поэтому вакцинные препараты для профилактики некробактериоза целесообразно конструировать не из бактериальных клеток, а из белковых компонентов (включая экзогенные и эндогенные токсины) *F. necrophorum* [2, 10, 12].

При разработке новой вакцины мы использовали полисахаридный адъювант, полученный из бурых морских водорослей, который при трехкратной внутрикожной вакцинации в дозе 0,4 мл обеспечивал высокую антигенную активность препарата.

Высокая антигенная активность вакцины, вводимой внутрикожно в дозах, меньших, чем при внутримышечном или подкожном введении, по всей видимости обусловлена следующими факторами:

- эффективным сочетанием антигенов и полисахаридного адъюванта, который обеспечивает предоставления антигена в форме удобной для его захвата антигенпрезентирующими клетками (АПК), при этом возможно адъювант стимулирует некоторые факторы активации АПК [6, 20];

- наличием в эпидермальном слое кожи большого количества клеток Лангерганса, которые

являясь предшественниками дендритных клеток, эффективно выполняют антигенпрезентирующие функции в ходе развития каскада поствакцинальных иммунологических реакций [21].

Испытания разработанной вакцины в условиях хозяйств, неблагополучных по некробактериозу, на клинически здоровом поголовье и на животных с выраженной картиной некробактериоза показали, что она обладает не только профилактическим (снижая заболеваемость в 5,9 раз), но и терапевтическим эффектом – обеспечивая увеличение количества выздоровевших животных и снижение продолжительности их лечения.

Одним из важнейших аспектов является безопасность вакцины [5, 10]. Известно, что одна из существенных проблем эмульгированных вакцин, изготовленных с использованием минеральных масел – высокая местная реактогенность [2, 20]. Вакцина УНГОВАК-FN показала себя как безопасный препарат, который не вызывает развития значимых общих и местных нежелательных последствий после вакцинации животных.

В целом, вакцинация против данного заболевания является эффективным противозооотическим мероприятием, которое позволяет повысить рентабельность производства [20, 21, 2, 9].

Полученные в ходе проведенных исследований результаты согласуются с многочисленными данными других ученых, занимающихся проблемой

некробактериоза и его специфической профилактики [6, 7, 4, 3, 5, 9]

Заключение

Проведенные исследования показали, что вакцина УНГОВАК-FN, изготовленная на основе экзогенных и эндогенных белковых компонентов *F. necrophorum* обладает выраженной антигенной активностью. Полисахаридный адъювант в составе вакцины, обеспечивающий при внутривидном введении эффективное взаимодействие антигенов вакцины с антигенпрезентирующими клетками, расположенными в эпидермальном слое кожи, позволил снизить иммунизирующую дозу препарата до 0,4 мл.

Вакцина обладает профилактическим и терапевтическим эффектами. Уровень защищенности вакцинированных животных при соблюдении соответствующих ветеринарно-санитарных и зооигиенических правил содержания животных от заболевания некробактериозом составляет 97,4...98,1 %, при этом протективный эффект после трехкратной вакцинации сохраняется не менее 7...8 мес.

Вакцинация животных, с явной клинической картиной некробактериоза, в комплексе с другими лечебными мероприятиями способствовала увеличению количества выздоровлений на 18,9 %, при этом значительно сокращалось время лечения больных некробактериозом животных.

Литература

1. Комплексная система мероприятий при некробактериозе животных. М. И. Гулюкин, Ю. Д. Караваев, И. Н. Семенова и др. // Ветеринария. 2007. № 9. С.19-23.
2. Соломахина О. И., Кириллов Л. В. Некробактериоз – комплексное решение проблемы. Аграрная Россия. 2001. №3. С. 38-41.
3. Усовершенствование промышленной технологии производства сорбированной инактивированной вакцины против некробактериоза с последующим ее масштабированием / Р. Н. Мельник, С. Н. Ярцев, Н. В. Мельник и др. // Ветеринарный врач. 2022. №2. С. 49-55.
4. Иммуный ответ у крупного рогатого скота на введение вакцины против некробактериоза с иммуномодулятором гликопином // О. Д. Кучерук, Г. И. Устинова, А. А. Сидорчук и др. // Ветеринария и кормление. 2009. № 2. – С. 25-27.
5. Скляр О. Д., Капустин А. В., Лаишевцев А. И Изучение безопасности применения ассоциированной вакцины против клостридиозов крупного рогатого скота для животных различных возрастных и физиологических групп // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2017. № 65. С. 124-130.
6. Бабинцева Т. В, Михеева Е. А. Сравнительный анализ эффективности вакцинации против некробактериоза крупного рогатого скота. Материалы Национальной научно-практической конференции молодых ученых: Интеграционные взаимодействия молодых ученых в развитии аграрной науки. Ижевск. 2020. Том I. С. 301-304.
7. Опыт внедрения ассоциированной вакцины против сибирской язвы и некробактериоза северных оленей в республике Саха (Якутия) / И. Е. Винокуров, Р. Н. Мельник, А. Я. Самуйленко и др. // Ветеринария и кормление. 2014. № 6. С. 28-29
8. Определение оптимальной дозы введения инактивированной вакцины против некробактериоза для крупного рогатого скота / В. Сущих, Н. Егорова, А. Розямов // International Independent Scientific Journal. 2022. No. 40. С. 26-28.
9. Опыт изготовления и применения инактивированной вакцины против некробактериоза животных / В. Ю. Сущих, А. А. Каримов, Б. Канатов // Ветеринария Кубани. 2023. No. 1. С. 16-18.
10. Leukotoxic activity of *Fusobacterium necrophorum* of cattle origin. / K. P. Deepti, G. A. Raghavendra, B. Giovanna, et al. // Anaerobe. 2019. Vol. 56. P. 51-56.
11. Leukotoxins of gram-negative bacteria / K. N. Sanjeev, T. G. Nagaraja, M. M. Chengappa et al. // Veterinary Microbiology. 2002. Vol. 84. P. 337–356.

12. Immunogenicity and protective effects of truncated recombinant leukotoxin proteins of *Fusobacterium necrophorum* in mice / K. N. Sanjeev, M. M. Chengappa, C. S. George // *Veterinary Microbiology*. 2003. Vol. 93. P. 335–347.
13. Капустин А. В. Способы контроля иммуногенной активности ассоциированной вакцины против инфекционных болезней крупного рогатого скота, вызванных различными видами бактерий рода *Clostridium spp.* // *Ветеринария и кормление*. 2017. № 3. С. 47-49.
14. Изучение эффективности применения поливалентной вакцины "Клостбовак-8" на неблагополучном по злокачественному отёку, браздоту и анаэробной энтеротоксемии поголовье мелкого рогатого скота // А. В. Капустин, О. Д. Скляр, Т. И. Алипер и др. // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2016. № 11. С. 33-40.
15. Species diversity of clostridia causing malignant edema in cattle / A. V. Kapustin, A. I. Laishevtcev, E. V. Ivanov et al. // В сборнике: Iop conference series: earth and environmental science. iii international scientific conference: agritech-iii-2020: agribusiness, environmental engineering and biotechnologies. Krasnoyarsk science and technology city hall of the Russian union of scientific and engineering associations. Krasnoyarsk. 2020. P. 720-41.
16. Tizard I. R. *Veterinary Immunology*, ten edition. ELSEVIER. 2018. 539 p.
17. An indirect ELISA for serodiagnosis of cattle footrot caused by *Fusobacterium necrophorum* / D. H. Guo, D. B. Sun, R. Wu et al. // *Anaerobe*. 2010. Vol. 16. P. 317-320.
18. Identification of three immunodominant regions on leukotoxin protein of *Fusobacterium necrophorum* / D. B. Sun, R. Wu, G. L. Li // *Vet Res Commun*. 2009. Vol. 33. No. 7. P.749-55.
19. Мурадян Ж. Ю., Рогов Р. В., Круглова Ю. С. Эффективность применения хитозана в составе вакцины против некробактериоза животных // Сборник научных трудов 11-й международной межвузовской конференции по клинической ветеринарии в формате Purina Partners. Москва. 2021. С. 301-304.
20. Специфическая профилактика инфекционных заболеваний конечностей крупного рогатого скота и овец в Российской Федерации (*Bacteroides nodosus* и *Fusobacterium necrophorum*) / С. Д. Панасюк, Л. В. Кириллов, А. А. Сидорчук и др. // Сборник научных трудов ВГНКИ. 2005. Т. 66. С. 265-279.
21. Efficacy of vaccination against *Fusobacterium necrophorum* infection for control of liver abscesses and footrot in feedlot cattle in western Canada / S. L. Checkley, E. D. Janzen, J. R. Campbell, et al. // *Can Vet J*. 2005. Vol.46. No. 11. P. 1002-7.

References

1. A comprehensive system of measures in case of necrobacteriosis of animals. M. I. Gulyukin, Yu. D. Karavaev, I. N. Semenova, et al. // *Veterinary medicine*. 2007. No. 9. P.19-23.
2. Solomakha O. I., Kirillov L. V. Necrobacteriosis - a comprehensive solution to the problem. *Agrarian Russia*. 2001. No. 3. P. 38-41.
3. Improvement of industrial technology for production of sorbed inactivated vaccine against necrobacteriosis with its subsequent scaling / R. N. Melnik, S. N. Yartsev, N. V. Melnik, et al. // *Veterinary doctor*. 2022. No. 2. P. 49-55.
4. Immune response of cattle to introduction of a vaccine against necrobacteriosis with the immunomodulator glycopin // O. D. Kucheruk, G. I. Ustinova, A. A. Sidorchuk, et al. // *Veterinary and feeding*. 2009. No. 2. P. 25-27.
5. Sklyarov O. D., Kapustin A. V., Laishevtsev A. I. Study of the safety of using an associated vaccine against clostridiosis of cattle for animals of various age and physiological groups // *Proceedings of Kuban State Agrarian University*. 2017. No. 65. P. 124-130.
6. Babintseva T. V., Mikheeva E. A. Comparative analysis of the effectiveness of vaccination against necrobacteriosis of cattle. Materials of the National Scientific and Practical Conference of Young Scientists: Integration interactions of young scientists in the development of agricultural science. Igevs. 2020. Vol. P. 301-304.
7. Experience of introducing an associated vaccine against anthrax and necrobacteriosis of reindeer in the Republic of Sakha (Yakutia) / I. E. Vinokurov, R. N. Melnik, A. Ya. Samuilenko, et al. // *Veterinary and feeding*. 2014. No. 6. P. 28-29
8. Specification of the appropriate dose of administration of an inactivated vaccine against necrobacteriosis for cattle / V. Sushikh, N. Egorova, A. Rozyamov, et al. // *International Independent Scientific Journal*. 2022. No. 40. P. 26-28.
9. Experience of production and use of inactivated vaccine against necrobacteriosis of animals / V. Yu. Sushikh, A. A. Karimov, B. Kanatov, et al. // *Veterinary Science of Kuban*. 2023. No. 1. P. 16-18.
10. Leukotoxic activity of *Fusobacterium necrophorum* of cattle origin. / K. P. Deepti, G. A. Raghavendra, B. Giovanna, et al. // *Anaerobe*. 2019. Vol. 56. P. 51-56.
11. Leukotoxins of gram-negative bacteria / K. N. Sanjeev, T. G. Nagaraja, M. M. Chengappa, et al. // *Veterinary Microbiology*. 2002. Vol. 84. P. 337–356.
12. Immunogenicity and protective effects of truncated recombinant leukotoxin proteins of *Fusobacterium necrophorum* in mice / K. N. Sanjeev, M. M. Chengappa, C. S. George, et al. // *Veterinary Microbiology*. 2003. Vol. 93. P. 335–347.
13. Kapustin A.V. Methods for controlling the immunogenic activity of an associated vaccine against infectious diseases of cattle caused by various types of bacteria of *Clostridium spp.* genus // *Veterinary medicine and feeding*. 2017. No. 3. P. 47-49.

14. Study of the effectiveness of usage of the polyvalent vaccine "Klostbovak-8" on a population of small ruminants unfavorable for malignant edema, bradstitis and anaerobic enterotoxemia // A. V. Kapustin, O. D. Sklyarov, T. I. Aliper, et al. // *Veterinary, animal science and biotechnology*. 2016. No. 11. P. 33-40.
15. Species diversity of clostridia causing malignant edema in cattle / A. V. Kapustin, A. I. Laishevtcev, E. V. Ivanov, et al. // In the collection: top conference series: earth and environmental science. iii international scientific conference: agritech-iii-2020: agribusiness, environmental engineering and biotechnologies. Krasnoyarsk science and technology city hall of the Russian union of scientific and engineering associations. 2020. P.720-41.
16. Tizard I. R. *Veterinary Immunology*, ten edition. ELSEVIER. 2018. 539 p.
17. An indirect ELISA for serodiagnosis of cattle footrot caused by *Fusobacterium necrophorum* / D. H. Guo, D. B. Sun, R. Wu, et al. // *Anaerobe*. 2010. Vol. 16. P. 317-320.
18. Identification of three immunodominant regions on leukotoxin protein of *Fusobacterium necrophorum* / D. B. Sun, R. Wu, G. L. Li, et al. // *Vet Res Commun*. 2009. Vol. 33. No. 7. P.749-55.
19. Muradyan Zh. Yu., Rogov R. V., Kruglova Yu. S. The effectiveness of application of chitosan in the vaccine against necrobacteriosis of animals // Collection of scientific papers of the 11th international interuniversity conference on clinical veterinary medicine in the Purina Partners format. Moscow. 2021. P. 301-304.
20. Specific prevention of infectious diseases of the limbs of cattle and sheep in the Russian Federation (*Bacteroides nodosus* and *Fusobacterium necrophorum*) / S. D. Panasyuk, L. V. Kirillov, A. A. Sidorchuk, et al. // Collection of scientific papers of VGNKI. 2005. Vol. 66. P. 265-279.
21. Efficacy of vaccination against *Fusobacterium necrophorum* infection for control of liver abscesses and footrot in feedlot cattle in western Canada / S. L. Checkley, E. D. Janzen, J. R. Campbell, et al. // *Can Vet J*. 2005. Vol. 46. No. 11. P.1002-7.