

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки)

doi:10.18286/1816-4501-2024-2-156-162

УДК 579.842.11:636-053.2(470.620)

Влияние адъювантных композиций на иммуногенность обезвреженных экзотоксинов *Escherichia coli*

А. С. Тищенко[✉], кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Микробиология, эпизоотология и вирусология», заведующий лабораторией микробиологии центра Биотехнологий

И. В. Сердюченко, кандидат ветеринарных наук доцент кафедры «Микробиология, эпизоотология и вирусология»

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина»

350044, Краснодарский край, город Краснодар, улица им. Калинина, дом 13

[✉] tishhenko.a@edu.kubsau.ru

Резюме. Статья посвящена изучению иммуногенных свойств инактивированных экзотоксинов патогенных эшерихий в сочетанном их применении с масляным и минеральным адъювантами и их влиянию на антителообразование у телят и поросят. В работе использовали изоляты патогенных кишечных палочек, при культивировании которых и последующим центрифугированием, получали бесклеточную культуральную массу, содержащую экзотоксины *E. coli*. В качестве адъювантов для колианатоксина использовали композиции, состоящие из 2%-ной суспензии $Al(OH)_3$ и масляного адъюванта, состоящего из эмульгатора (биологически инертное кремнийорганическое соединение цетил-ПЭГ/ППГ-10/1 – диметикон) – 1,5 % и масляной основы – вакцинное масло "М" по ТУ 381011224 – 98,5 % в соотношении 20 % и 50 % соответственно. Изучение иммуногенных свойств препаратов проводили на крупном рогатом скоте голштинской породы (n=100) и свиньях крупной белой породы (n=150) в условиях учебно-опытных хозяйств Кубанского ГАУ города Краснодара. Стельных коров вакцинировали подкожно двукратно за 45 и за 15 дней до отела, супоросных свиноматок – внутримышечно за 40 дней и за 15 дней до опороса. Полученное потомство иммунизировали двукратно, телят в возрасте 13...15 дней и через 19...21 день, поросят – в возрасте 10...12 дней и за 5 дней до отъема. При иммунизации комбинацией колианатоксина с гидратом окиси алюминия и масляным адъювантами у телят на протяжении 56 дней наблюдений продукция антител была в 1,1...1,4 раза больше, чем у животных, которых иммунизировали колианатоксином и моноадъювантами, и в 2,8 раза больше, чем у животных, вакцинированных только колианатоксином. При этом титр антител находился в пределах 4,6...5,8 \log_2 . У свиней первой группы количество антител было в 1,2...9 раз больше, чем у поросят из остальных опытных групп, с титром защитных клеток 3,4...5,4 \log_2 на всем протяжении исследований.

Ключевые слова: иммуногенность, адъюванты, экзотоксины, *Escherichia coli*, колианатоксин, антитела, телята, поросята.

Для цитирования: Тищенко А. С., Сердюченко И. В. Влияние адъювантных композиций на иммуногенность обезвреженных экзотоксинов *Escherichia coli* // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2024. №2 (66). С. 156-162. doi:10.18286/1816-4501-2024-2-156-162

Effect of adjuvant formulation on immunogenicity of detoxified exotoxin *Escherichia coli*

A. S. Tishchenko[✉], I. V. Serdyuchenko

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin»

350044, Krasnodar territory, Krasnodar, 13 Kalinina str.

[✉] tishhenko.a@edu.kubsau.ru

Abstract. The article is devoted to the study of the immunogenic properties of inactivated exotoxins of pathogenic *Escherichia coli* in their combined use with oily and mineral adjuvants and their effect on antibody formation in calves and piglets. This were used, isolates of pathogenic *E. coli*, during the cultivation of which and subsequent centrifugation, an acellular culture mass containing *E. coli* exotoxins was obtained. As adjuvants for colianatoxin, compositions consisting of a 2 % suspension of $Al(OH)_3$ and an oily adjuvant consisting of an emulsifier (biologically inert organosilicon compound cetyl-PEG/PPG-10/1 – dimethicone) - 1.5 % and an oil base – vaccine oil "M" according to TU 381011224 - 98.5 % in a ratio of 20 % and 50 %, respectively. The immunogenic properties of the drugs were studied on cattle of Holstein breed (n = 100)

and pigs of large white breed ($n = 150$) in the conditions of educational and experimental farms of the Kuban State Agrarian University of Krasnodar. Steel cows were vaccinated subcutaneously twice 45 and 15 days before calving, sows - intramuscularly 40 days and 15 days before farrowing. The resulting offspring were immunized twice, calves at the age of 13...15 days and after 19...21 days, piglets at the age of 10...12 days and 5 days before weaning. When immunized with a combination of colianatoxin with alumina hydrate and oily adjuvants in calves over 56 days of observation, antibody production was 1.1...1.4 times greater than in animals immunized with colianatoxin and monoadjuvants and 2.8 times greater than in animals vaccinated with colianatoxin alone. The antibody titer was within 4.6...5.8 \log_2 . In pigs of the first group, the number of antibodies was 1.2...9 times greater than in piglets from the remaining experimental groups, with a protective cell titer of 3.4...5.4 \log_2 throughout the studies.

Keywords: immunogenicity, adjuvants, exotoxins, *Escherichia coli*, colianatoxin, antibodies, calves, piggery.

For citation: Tishchenko A. S., Serdyuchenko I.V. Effect of adjuvant formulation on immunogenicity of detoxified exotoxin *Escherichia coli* // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2024;2(66): 156-162 doi:10.18286/1816-4501-2024-2-156-162

Введение

Поиск оптимальных и эффективных адъювантов для антигенов со слабой иммуногенностью представляет собой важную задачу в биотехнологическом производстве вакцинных препаратов [1, 2, 3]. Экзотоксины патогенных эшерихий, такие как термолabileный (LT) и термостабильный (ST) и шигаподобный (STX) токсины обладают низкой молекулярной массой и являются растворимыми антигенами, нуждающиеся в обработке адъювантами, веществами, повышающие иммуногенность [4, 5, 6, 7]. Наиболее распространенными веществами, усиливающими иммунный ответ биопрепаратов и адсорбирующих слабые иммуногены на своей поверхности, традиционно являются гидрат окиси алюминия и масляный неполный адъювант Фрейнда [8, 9, 10].

На сегодняшний день существуют исследования по использованию инактивированных экзотоксинов патогенных эшерихий как в чистом виде (колианатоксин (КА)), так и в сочетании с адъювантами. Однако ранее проведенными исследованиями установлено, что колианатоксин и применение в качестве адъюванта гидрата окиси алюминия [11], а также и минерального масла [12] провоцировали иммунный ответ у животных, но непродолжительное время, что сказывалось на эффекте профилактики и поствакцинальном протективном действии биопрепаратов. Кроме того, описанные выше исследования проводились на лабораторных животных (белых крысах и кроликах), в связи с этим изучение взаимодействия компонентов колианатоксина в сочетании с композициями адъювантов на иммунные механизмы телят и поросят представляет практический интерес.

Цель работы – изучение влияния масляно-минерального адъюванта на иммуногенность инактивированных экзотоксинов *E. coli* в опытах на крупном рогатом скоте и свиньях для совершенствования профилактики эшерихиоза у телят и поросят.

Материалы и методы

Работу выполняли на базе лаборатории микробиологии центра Биотехнологий и кафедры микробиологии, эпизоотологии и вирусологии Кубанского госагроуниверситета. Изоляты кишечных палочек, которые использовали для приготовления колианатоксина, были выделены из патологического

материала павших телят и поросят от эшерихиозной инфекции. Родовую идентификацию проводили с использованием бактериологического и серологического методов диагностики с использованием коммерческих питательных сред (ГМФ-агар, ГМФ-бульон, бульон Хоттингера, агар Эндо) и коаггулинирующих и адгезивных сывороток производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г. Оболенск и ФКП «Армавирская биофабрика», г. Армавир. Видовую идентификацию патогенных кишечных палочек проводили с использованием метода MALDI-TOF MS на спектрометре BactoSCREEN при помощи прилагающегося программного обеспечения (Литех, РФ). Перед анализом была проведена калибровка с использованием бактериального тест-стандарта (Литех, РФ), содержащего белковый экстракт *E. coli*. Молекулярно-генетическую характеристику изолятов *E. coli* на определение генов экзотоксинов и патотипов эшерихий с выявлением специфических участков ДНК устанавливали в полимеразно-цепной реакции с использованием тест-систем АмплиСенс Эшерихиозы-FL диареогенные *E. coli* (Москва) и с помощью соответствующих праймеров, синтезированных компанией ЗАО «Евроген» (Москва).

Колианатоксин, содержащий основные экзометаболиты патогенных кишечной палочки получали путем культивирования в течение 6...7 суток изолятов кишечной палочки со стабильным генетическим набором, отвечающих за продукцию соответствующих токсинов (LT, ST и STX) и других метаболитов, и их последующим центрифугированием. Контроль продукции экзометаболитов контролировали биологическим методом на инфузориях-стилониях. На следующем этапе с помощью стерилизующей фильтрации отделили микробную массу от среды культивирования, получая, таким образом, бесклеточную культуральную среду *E. coli*, куда затем вносили адъюванты: 2 %-ную суспензию $Al(OH)_3$ (ГОА) и масляный адъювант (МА), состоящий из эмульгатора (биологически инертное кремнийорганическое соединение цетил-ПЭГ/ППГ-10/1 - диметикон) – 1,5 % и масляной основы – вакцинное масло "М" по ТУ 381011224 - 98,5 % (патент РФ №2510845)). Подбор оптимальных компонентов адъювантов подбирали опытным путем – на 100 мл колианатоксина

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки)

вносили 20 % $Al(OH)_3$ и 50 % масляного адьюванта. При заявленном соотношении веществ наблюдали максимальную иммуногенную эффективность препаратов и отсутствие раздражающего и реактогенного действия.

Изучение иммуногенных свойств биопрепаратов проводили в учебно-опытных хозяйствах Кубанского ГАУ. Для проведения исследований сформировали по 5 групп животных, в каждой по 10 стельных коров голштинской породы и 5 супоросных свиноматок крупной белой породы. Животным вводили колианатоксин с комбинированным минерально-масляным адьювантом (КА+ГОА+МА), колианатоксин с гидратом окиси алюминия (КА+ГОА) и масляным адьювантом (КА+МА) по-отдельности и КА без адьювантов. Иммунизацию стельных коров осуществляли подкожно первый раз за 45, а второй раз за 15 дней до отела, супоросных свиноматок внутримышечно первый раз за 40 дней, а второй раз – за 15 дней до опороса. Полученное потомство иммунизировали двукратно – телят ($n=50$) иммунизировали первый раз в возрасте 13...15 дней, а второй через 19...21 день, поросят ($n=125$) прививали первый раз в возрасте 10...12 дней, а второй за 5 дней до отъема. Дозы препаратов и схема опыта представлены в таблице 1. Сроки вакцинации определяли опытным путем с контролем максимального накопления антител у беременных животных в кровяном

русле и молозиве. Двукратная вакцинация потомства осуществлялась по мере расходования у них молозивных антител с целью стимуляции выработки собственных защитных клеток против возбудителя эшерихиоза и повышения иммунного статуса у телят и поросят.

За животными на протяжении всего исследования вели наблюдение на наличие поствакцинальных реакций и осложнений. Иммуногенные свойства инактивированных экзотоксинов патогенных эшерихий и адьювантов в виде выработки антитоксических иммуноглобулинов изучали у телят и поросят, полученных от вакцинированных стельных коров и свиноматок соответственно. Для этого на 7, 14, 28 и 56 день после последней иммунизации отбирали сыворотку крови у животных для определения наличия антител серологическими исследованиями в реакции диффузной преципитации.

Полученные результаты обрабатывали математическими и статистическими методами с определением степени достоверности по распределению Стьюдента с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2016.

Результаты

На протяжении всего срока исследований поствакцинальных реакций и осложнений у иммунизированных свиней и крупного рогатого скота установлено не было.

Таблица 1. Схема опыта по использованию колианатоксина и адьювантов у свиней и крупного рогатого скота

№ группы животных	Препарат	Доза препаратов, см ³			
		Свиноматки	Поросята	Коровы	Телята
1	(КА+ГОА+МА)	5+5	0,25+0,5	10+10	2+2
2	(КА+ГОА)				
3	(КА+МА)				
4	(КА без адьювантов)				
5	–	Не иммунизировали			

Таблица 2. Влияние композиций адьювантов и колианатоксина на продукцию антител у телят

Группа животных и вводимый препарат	Титр антитоксических антител после последнего введения препаратов, log ₂ (M±m)			
	На 7-й день	На 14-й день	На 28-й день	На 56-й день
1. Иммунизировали (КА+ГОА+МА)	5,6±0,6	5,8±0,5*	5,2±0,4*	4,6±0,2*
2. Иммунизировали аналогом 1 (КА+ГОА)	4,6±0,6	4,8±0,4*	3,6±0,5	3,2±0,4
3. Иммунизировали аналогом 2 (КА+МА)	4,8±0,4*	5,2±0,4*	4,2±0,2*	3,6±0,5
4. Иммунизировали аналогом 3 (КА без адьювантов)	3,8±0,4	2,6±0,5	1,8±0,4	1,6±0,5
5. Не иммунизировали	1,4±0,5	1,2±0,5	1,2±0,2	0,8±0,4

* $p < 0,05$

Результаты изучения влияния применения колианатоксина и адьювантов на титр антител у телят представлены в таблице 2. В результате иммунизации животных колианатоксином и адьювантными композициями обеспечивается стимуляция гуморального иммунитета против эшерихиозной инфекции, которая выражается в продукции антител. Иммунный ответ, обусловленный введением

инактивированных токсинов *E. coli* и масляно-минерального адьюванта, был более выражен и продолжителен. На 7-е сутки после последнего введения препаратов уровень антитоксических антител у телят составил 5,6 log₂, что в 1,2...1,5 раза превышало значение опытных групп. Количество иммуноглобулинов у телят в контрольной группе на всем

протяжении исследований был выше показателей опытных групп и не превышал значения $1,4 \log_2$.

Таблица 3. Влияние композиций адъювантов и колианатоксина на продукцию антител у поросят

Группа животных и вводимый препарат	Титр антитоксических антител после последнего введения препаратов, $\log_2 (M \pm m)$			
	На 7-й день	На 14-й день	На 28-й день	На 56-й день
1. Иммунизировали (КА+ГОА+МА)	4,6±0,8	5,4±0,4*	4,8±0,8	3,4±0,6
2. Иммунизировали аналогом 1 (КА+ГОА)	3,6±0,6	4,2±0,8	2,8±0,6	1,8±0,4
3. Иммунизировали аналогом 2 (КА+МА)	4,2±0,4*	4,6±0,3*	3,2±0,5	2,2±0,6
4. Иммунизировали аналогом 3 (КА без адъювантов)	2,8±0,8	1,6±0,6	1,2±0,5	0,6±0,2
5. Не иммунизировали	0,8±0,4	0,6±0,2	0,6±0,4	0,4±0,4

* $p < 0,05$

Динамика нарастания титров антител у животных в первой опытной группе свидетельствовала о продолжении формирования специфического иммунитета и эффективности адъювантного комплекса. На 14-й день количество антител составило $5,8 \log_2$, что в 1,1...1,2 раза превышало значения 3 и 2 групп соответственно, где адъюванты применяли по отдельности. В 4-й опытной группе у телят количество антител снизилось в 1,5 раза в сравнении с предыдущими показателями.

На 28-й день титры антител снизились во всех опытных группах в среднем в 1,25 раза. Максимальное количество антиоксических иммуноглобулинов было у телят в 1-й опытной группе и составило $5,2 \log_2$, следующим по силе иммунный ответ был в 3-й опытной группе – $4,2 \log_2$, $3,6 \log_2$, – во второй группе, $1,8 \log_2$ – в 4-й группе.

На 56-й день наблюдений иммуногенность инактивированных токсинов *E. coli* и масляно-минерального адъюванта при вакцинации телят сохранилась на уровне $4,6 \log_2$, что было выше, чем у животных других опытных групп в 1,3...2,8 раза.

Влияние применения комбинаций адъювантов и инактивированных экзотоксинов эшерихий на титр антител у поросят представлены в таблице 3.

У поросят через 7 дней после введения токсидных препаратов уровень антител находился в пределах $2,8...4,6 \log_2$. При этом максимальное количество иммуноглобулинов было у поросят, иммунизированных инактивированными токсинами эшерихий и минерально-масляным адъювантом. У животных во 2 и 3 группах титр антител был 1,1...1,3 раза ниже первой группы, но в 1,3...1,5 раза выше, чем у поросят в 4-й группе.

На 14 день исследований у животных в опытных группах 1...3 отмечали повышение уровня антител в среднем в 1,2 раза, у поросят из 4-й опытной группы снизилось количество иммуноглобулинов в 1,7 раза. Максимальный титр антител

регистрировали у животных в 1-й опытной группе ($5,4 \log_2$), что в 1,2...1,3 раза превышало значение в 3 и 2 группах соответственно.

На 28 день во всех опытных группах количество иммуноглобулинов снизилось, но было выше, чем в контроле. В группе животных, где применяли инактивированные токсины с масляным и минеральным адъювантами по-отдельности, уровень антител находился в пределах $2,8...3,2 \log_2$. Применение композиции из адъювантов позволило повысить иммуногенность инактивированных токсинов *E. coli*, что отразилось на количестве продуцируемых антител.

На 56 день титр антиоксических иммуноглобулинов снизился во всех опытных группах, но динамика была различной. У животных в 1-й опытной группе количество иммуноглобулинов по-прежнему оставался выше, что в других опытных группах и составил $3,2 \log_2$. Этот показатель превышал в 1,7...5,3 раза аналогичных значения у животных 2...4 групп.

Обсуждение

Современные подходы к решению проблем эффективной специфической профилактики эшерихиоза у телят и поросят по-прежнему востребованы для ветеринарии и животноводства [13, 14, 15, 16]. Научная идея разработки анатоксинов для борьбы с токсигенными формами эшерихиоза базируется на сформированном ранее заделе отечественных и зарубежных исследователей [5, 11, 17, 18].

Анатоксины считаются более безопасными и менее реактогенными в использовании на животных, но обладают низкой иммуногенностью. Использование адъювантов позволяет усилить иммунный ответ, активировать адаптивные и врожденные механизмы иммунитета. В производстве вакцин используют вещества различной природы. Наиболее распространены соединения алюминия и масляные эмульсии, которые создают депо низкомолекулярных антигенов в организме [1, 8, 9, 10, 19].

Выбор адъювантов для инактивированных экзотоксинов эшерихий (LT, ST и STX), а также подобранные концентрации и дозы препаратов, были обусловлены научными данными и имеющимся экспериментально-исследовательским заделом. Использование гидрата окиси алюминия в композиции с масляным адъювантом являлось основной поисковой задачей, которая отвечает современным научным запросам. В свою очередь в литературных источниках отмечают положительный опыт применения комбинированных адъювантов [2, 11, 12, 13].

Анализируя полученные данные, отметили повышение как силы иммунного ответа, так и его продолжительность у телят и поросят после иммунизации колианатоксином в сочетании с композицией адъювантов. Защитный эффект в виде накопления антител регистрируется на протяжении 28 дней со снижением к 56 дню. Максимальное значение уровня иммуноглобулинов отмечали как у телят, так и у поросят на 14-й день после

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки)

последней иммунизации. Снижение динамики иммуногенности после 28 дней опыта составляло не более, чем в 1,4 раза у телят и 1,2 раза у поросят. Тогда как в других группах, где использовали адьюванты по-отдельности, зафиксировали снижение уровня накопления антител в 1,5 раза и более.

Результаты, полученные в ходе исследований и использованная методология по оценке иммунного статуса животных и иммуногенности выбранных биопрепаратов, согласуется с ранее проведенными работами по профилактике эшерихиозов у телят и поросят [13, 14, 15, 18, 20].

Заключение

Применение комбинированного минерально-масляного адьюванта повышает иммуногенность

инактивированных токсинов *E. coli*, что выражается в усилении антителообразования и продолжительности иммунного ответа у животных. Максимальное количество антител у телят и поросят регистрировали на 14-й день после вакцинации – $5,8 \log_2$ и $5,4 \log_2$ соответственно. По истечении 5 дней после введения препаратов титр антител у животных оставался самым высоким в группах, которым вводили колианатоксин с адьювантной композицией (ГОА+МА), и составил $4,6 \log_2$ у телят и $3,4 \log_2$ – у поросят. Препараты на основе токсидных компонентов и адьювантов не обладали реактогенностью, являлись безопасными в использовании и эффективными для профилактики инфекции, вызванной патогенными токсигенными эшерихиями.

Литература

1. Позняк Т. А., Князева О. Р., Гончаров А. Е. Адьюванты как эффективные средства доставки антигенов для вакцин нового поколения // Медицинские новости. 2021. № 4(319). С. 53-58.
2. Vaccine adjuvants: key tools for innovative vaccine design / P. Riese, K. Schulze, T. Ebensen, et al. // Curr Top Med Chem. 2013. Vol. 13. No. 20. P.2562-80. doi: 10.2174/15680266113136660183.
3. New-age vaccine adjuvants, their development, and future perspective / S. K. Verma, P. Mahajan, N. K. Singh, et al. // Front Immunol. 2023. Vol. 14. P. 1043109. doi: 10.3389/fimmu.2023.1043109.
4. Разработка кандидатных вакцин против инфекции, вызванной шига-токсин-продуцирующими *Escherichia coli*. Часть 2 / Э. А. Светоч, И. А. Дятлов, Ш. Н. Карцев и др. // Бактериология. 2020. Т. 5. № 3. С. 47-59. doi: 10.20953/2500-1027-2020-3-47-59.
5. Pokharel P., Dhakal S., Dozois C.M. The Diversity of *Escherichia coli* Pathotypes and Vaccination Strategies against This Versatile Bacterial Pathogen // Microorganisms. 2023. Vol. 11. No. 2. P. 344. doi: 10.3390/microorganisms11020344.
6. Проблемы антибиотикотерапии энтеротоксигенного эшерихиоза телят и поросят и пути их решения / А. С. Тищенко, А. Г. Кощаев, П. П. Яковенко и др. // Ветеринария Кубани. 2022. № 3. С. 8-11. doi:10.33861/2071-8020-2022-3-8-11.
7. Menge C. The Role of *Escherichia coli* Shiga Toxins in STEC Colonization of Cattle // Toxins (Basel). 2020. Vol. 21. No. 12. P. 607. doi: 10.3390/toxins12090607.
8. Андреев, Ю. Ю. Адьюванты и иммуномодуляторы в составе вакцин / Ю. Ю. Андреев, А. П. Топтыгина // Иммунология. 2021. Т. 42. № 6. С. 720-729. doi: 10.33029/0206-4952-2021-42-6-720-729.
9. Общая характеристика адьювантов и механизм их действия (часть 1) / Н. А. Алпатова, Ж. И. Авдеева, С. Л. Лысыкова и др. // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2020. Т. 20. № 4. С. 245-256. doi:10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256.
10. A. Habib, K. M. Anjum, R. Iqbal Vaccine Adjuvants: Selection Criteria, Mechanism of Action Associated with Immune Responses and Future Directions. Iran J Immunol. 2023. Vol. 14. No. 20. P. 1-15. doi: 10.22034/iji.2023.94097.2284.
11. Тищенко А. С. Иммуногенные свойства эшерихиозного полианатоксина в сочетании с гидратом окиси алюминия // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: сборник статей по материалам 72-й научно-практической конференции преподавателей по итогам НИР за 2016 г., Краснодар, 29 марта 2017 года. Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2017. – С. 199-200.
12. Киященко А. А., Белик А. Р., Тищенко А. С. Иммуногенные свойства эшерихиозного полианатоксина при совместном использовании с масляным адьювантом // Вестник научно-технического творчества молодежи Кубанского ГАУ: Сборник статей по материалам научно-исследовательских работ: в 4 томах, Краснодар, 22–25 марта 2017 года / Сост. А. Я. Барчукова, Я. К. Тосунгов; под ред. А. И. Трубилина, отв. ред. А. Г. Кощаев. Том 4. Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2017. С. 32-35.
13. Адьюванты при конструировании ассоциированных вакцин против инфекционных энтеритов молодняка крупного рогатого скота / П. А. Красочко, Я. П. Яромчик, П. П. Красочко и др. // Ветеринарна біотехнологія. 2019. № 35(35). С. 90-99. doi: 10.31073/vet_biotech35-11.
14. Галиакбарова А. А., Пирожков М. К. Выявление связи между иммуногенной и антигенной активностью вакцины против колибактериоза животных // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агронимия и животноводство. 2020. Т. 15. № 2. С. 200-209. doi:10.22363/2312-797X-2020-15-2-200-209.

15. Влияние обезвреженных форм экзотоксинов кишечной палочки на гуморальные факторы защиты у животных / А. Г. Коцаев, В. И. Терехов, А. С. Тищенко // Ветеринария Кубани. 2021. № 3. С. 15-16. doi: 10.33861/2071-8020-2021-3-15-16.
16. Bashahun, G. Colibacillosis in calves: A review of literature / G. Bashahun, A. Amina // J. Anim. Sci. Vet. Med. 2017. Vol. 2. P. 62–71. doi: 10.31248/JASVM2017.041.
17. Mirhoseini A., Amani J., Nazarian S. Review on pathogenicity mechanism of enterotoxigenic *Escherichia coli* and vaccines against it // Microb Pathog. 2018. No. 117. P. 162-169. doi: 10.1016/j.micpath.2018.02.032.
18. Dubreuil J. D. Pig vaccination strategies based on enterotoxigenic *Escherichia coli* toxins. Braz J Microbiol. 2021. Vol. 52. 4. P. 2499-2509. doi: 10.1007/s42770-021-00567-3.
19. Gerdt V. Adjuvants for veterinary vaccines—types and modes of action. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2015. No. 128. No11-12. P. 456-63.
20. Zhang Protective immunity of a Multivalent Vaccine Candidate against piglet diarrhea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in a pig model / H. Zhang, Y. Xu, Z. // Vaccine. 2018.Vol. 29. No. 36 (5). P. 723-728. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.12.026.

References

1. Pozniak T., Kniazeva V., Hancharou A. An adjuvants are effective antigen delivery vehicles for next - generation vaccines // Medical news. 2021; No.4(319). p. 53-58.
2. Vaccine adjuvants: key tools for innovative vaccine design / P. Riese, K. Schulze, T. Ebensen, et al. // Curr Top Med Chem. 2013. Vol. 13. No. 20. P.2562-80. doi: 10.2174/15680266113136660183.
3. New-age vaccine adjuvants, their development, and future perspective / S. K. Verma, P. Mahajan, N. K. Singh, et al. // Front Immunol. 2023.Vol. 14. P. 1043109. doi: 10.3389/fimmu.2023.1043109.
4. Development of candidate vaccines against infection caused by shiga-toxin producing *Escherichia coli*. Part 2 / E.A. Svetoch, I.A. Dyatlov, N.N. Kartsev, et al. // Bacteriology, 2020ю Vol. 5 No. 3. P. 47–59. doi: 10.20953/2500-1027-2020-3-47-59.
5. Pokharel P., Dhakal S., Dozois C.M. The Diversity of *Escherichia coli* Pathotypes and Vaccination Strategies against This Versatile Bacterial Pathogen // Microorganisms. 2023. Vol. 11. No. 2. P. 344. doi: 10.3390/microorganisms11020344.
6. Problems of antibiotic therapy of enterotoxigenic escherichiosis of calves and piglets and the ways of their solution / A.S. Tishchenko, A.G. Koshchaev, P.P. Yakovenko, et al. // Veterinaria Kubani. 2022. No. 3. P. 8-11. doi:10.33861/2071-8020-2022-3-8-11.
7. Menge C. The Role of *Escherichia coli* Shiga Toxins in STEC Colonization of Cattle // Toxins (Basel). 2020. Vol. 21. No. 12. 9. P. 607. doi: 10.3390/toxins12090607.
8. Andreev Yu., Toptygina A. P. Adjuvants and immunomodulators in vaccines. Immunologiya. 2021. Vol. 42 (6): P. 720–9. doi: https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-6-720-729.
9. General characteristics of adjuvants and their mechanism of action (part 1) / Alpatova N. A., Avdeeva Zh. I., Lysikova S.L., et al. // BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment. 2020. Vol. 20. No. 4. P. 245–256. doi:10.30895/2221-996X-2020-20-4-245-256.
10. Habib A., Anjum K. M., Iqbal R. Vaccine Adjuvants: Selection Criteria, Mechanism of Action Associated with Immune Responses and Future Directions. Iran J Immunol. 2023. Vol. 14. No. 20. 1. P. 1-15. doi: 10.22034/iji.2023.94097.2284.
11. Tishchenko A. S. Immunogenic properties of the polianatoxin of escherichiosis in combination with aluminum hydrate // Scientific support of the agro-industrial complex: a collection of articles based on the materials of the 72nd scientific and practical conference of teachers on the results of research in 2016, Krasnodar, March 29, 2017. Krasnodar: Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, 2017. p. 199-200.
12. Kiyashchenko A. A., Belik A. R., Tishchenko A. S. Immunogenic properties of escherichia polyanatoxin when combined with an oil adjuvant // Bulletin of scientific and technical creativity of the youth of the Kuban State Agrarian University: Collection of articles based on research papers: in 4 volumes, Krasnodar, March 22-25, 2017 / Comp. A. Ya. Barchukova, Ya. K. Tosunov; edited by A. I. Trublin, ed. by A. G. Koshchaev. Vol. 4. Krasnodar: Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, 2017. P. 32-35.
13. Adjuvants in construction of mixed vaccines against infectious enterites of calves / P. A. Krasochko, Y. P. Yaromchyk, P. P. Krasochko, et al. // Veterinary biotechnology. 2019. No. 35 (35). P. 90-99. doi: 10.31073/vet_biotech35-11.
14. Galiakbarova A. A., Pirozhkov M. K. Relationship between immunogenic and antigenic activity of the vaccine against colibacteriosis of animals. RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries. 2020. Vol. 15. No. 2. P. 200–209. doi: 10.22363/2312-797X-2020-15-2-200-209
15. Influence of neutralized *E. Coli* exotoxins' forms on humoral factors of protection in animals / A. G. Koshchaev, V. I. Terekhov, A. S. Tishchenko, et al. // Veterinaria Kubani. 2021. No. 3. P. 15-16. doi: 10.33861/2071-8020-2021-3-15-16
16. Bashahun, G. Colibacillosis in calves: A review of literature / G. Bashahun, A. Amina // J. Anim. Sci. Vet. Med. 2017. Vol. 2. P. 62–71. doi: 10.31248/JASVM2017.041.

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки)

17. Mirhoseini A., Amani J., Nazarian S. Review on pathogenicity mechanism of enterotoxigenic *Escherichia coli* and vaccines against it // *Microb Pathog.* 2018. No. 117. P. 162-169. doi: 10.1016/j.micpath.2018.02.032.
18. Dubreuil J. D. Pig vaccination strategies based on enterotoxigenic *Escherichia coli* toxins. *Braz J Microbiol.* 2021. Vol. 52. No.4. P. 2499-2509. doi: 10.1007/s42770-021-00567-3.
19. Gerdts V. Adjuvants for veterinary vaccines-types and modes of action. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2015. No. 128. No. 11-12. P. 456-63.
20. Zhang H., Xu Y. Protective immunity of a Multivalent Vaccine Candidate against piglet diarrhea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in a pig model // *Vaccine.* 2018. Vol. 29. No. 36 (5). P. 723-728. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.12.026.