

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ИНАКТИВИРОВАННЫХ АНТИРАБИЧЕСКИХ ВАКЦИН ИЗ ШТАММА «ВНИИЗЖ» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ АДЬЮВАНТОВ

А. Н. Балашов¹, Д. А. Лозовой², А. В. Борисов³, Д. В. Михалишин⁴, М. И. Доронин⁵

¹ Ведущий технолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: balashov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7597-6698

² Заместитель директора по НИР и развитию, доктор ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: lozovoy@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5983-7062

³ Ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: borisov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-9880-9657

⁴ Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: mihalishindv@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-1718-1955

⁵ Научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: doronin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4682-6559

РЕЗЮМЕ

На территории Российской Федерации продолжают регистрировать случаи бешенства среди разных видов млекопитающих. Источником и резервуаром природного бешенства являются дикие плотоядные, которые при контакте передают возбудитель домашним и сельскохозяйственным животным. Наибольшее количество случаев инфицирования вирусом бешенства в группе сельскохозяйственных животных отмечают среди крупного рогатого скота. Так, в 2017 г. в Российской Федерации зафиксировано 158 новых очагов инфекции, в которых вирус был выявлен именно у крупного рогатого скота. В современных условиях в системе ветеринарно-санитарных мероприятий против бешенства одно из ведущих мест занимает специфическая профилактика, а также оценка ее эффективности по уровню накопления антирабических вируснейтрализующих антител. В статье приведены результаты исследований по изучению иммунобиологических свойств трех инактивированных антирабических вакцин из штамма «ВНИИЗЖ», которые предназначены для профилактики бешенства крупного рогатого скота. Показано, что сорбированная

и две эмульсионные вакцины против бешенства, разработанные с применением различных адъювантов (гель гидрата окиси алюминия, Montanide ISA 206 и Montanide ISA 70), являются авирулентными и безвредными при тестировании на белых мышах и крупном рогатом скоте. Все экспериментальные антирабические вакцины, изготовленные из штамма «ВНИИЗЖ», стимулируют формирование поствакцинального иммунитета у всех привитых животных уже на 21 сут после введения. Средние значения титра антирабических антител составили: для инактивированной сорбированной – $4,02 \pm 0,76$ МЕ/см³; для инактивированных эмульсионных – $16,30 \pm 2,03$ и $20,73 \pm 3,39$ МЕ/см³. По сравнению с сорбированной вакциной эмульсионные препараты на основе адъювантов Montanide ISA 206 и ISA 70 индуцируют более напряженный иммунитет.

Ключевые слова: бешенство, поствакцинальный иммунитет, антирабические вируснейтрализующие антитела, инактивированная сорбированная и эмульсионная вакцины против бешенства, крупный рогатый скот.

UDC 619:578.824:11:636.22/.28:615.371

ASSESSMENT OF EFFICACY AND SAFETY OF INACTIVATED RABIES VACCINES BASED ON "ARRIAH" STRAIN AND FORMULATED WITH DIFFERENT ADJUVANTS IN CATTLE

A. N. Balashov¹, D. A. Lozovoy², A. V. Borisov³, D. V. Mikhlishin⁴, M. I. Doronin⁵

¹ Leading Technologist, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: balashov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7597-6698

² Deputy Head for Research and Development, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: lozovoy@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5983-7062

³ Leading Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: borisov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-9880-9657

⁴ Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: mihalishindv@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-1718-1955

⁵ Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: doronin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4682-6559

SUMMARY

Rabies cases are still reported in various mammal species in the Russian Federation. Wild carnivores contacting with domestic and farm animals and transmitting the pathogen to them are the main source and natural reservoirs of rabies. The highest level of rabies incidence in livestock is observed among cattle. Thus, 158 new outbreaks were reported in the Russian Federation in 2017 where the virus was identified in cattle. Rabies specific prophylaxis as well as assessment of its efficacy based on the level of accumulated anti-rabies virus neutralizing antibodies currently occupy one of the leading positions in the modern system of veterinary and sanitary measures against rabies. The paper presents the study results confirming efficacy and safety of three inactivated rabies vaccines based

on the "ARRIAH" strain and intended for rabies prevention in cattle. The adsorbed and two emulsion rabies vaccines, formulated with different adjuvants demonstrated innocuity and safety, and induced post-vaccination immunity in all immunized animals at day 21 post inoculation. The mean titers of anti-rabies antibodies were as follows: for inactivated adsorbed vaccine – 4.02 ± 0.76 IU/cm³; for inactivated emulsion vaccines – 16.30 ± 2.03 and 20.73 ± 3.39 IU/cm³. As compared with the adsorbed vaccine, the emulsion vaccines formulated with Montanide ISA 206 and ISA 70 adjuvants induce stronger immunity.

Key words: rabies, post-vaccination immunity, anti-rabies virus-neutralizing antibodies, inactivated adsorbed and emulsion vaccines against rabies, cattle.

ВВЕДЕНИЕ

Бешенство (*Rabies*) является остро протекающим вирусным заболеванием млекопитающих, которое характеризуется поражением центральной нервной системы, энцефаломиелитами, параличами с неизбежным летальным исходом. В соответствии с классификацией Международного комитета по таксономии вирусов возбудитель принадлежит к порядку *Mononegavirales*, семейству *Rhabdoviridae*, роду *Lyssavirus* [16].

Ежегодно в мире от бешенства погибает более 50 тысяч человек и свыше миллиона животных. В настоящее время Российская Федерация остается страной, неблагополучной по данному заболеванию. На территории государства продолжают регистрировать случаи бешенства среди разных видов млекопитающих, в том числе крупного рогатого скота (КРС), мелкого рогатого скота, свиней, лошадей, собак, кошек, диких плотоядных животных и т. д. [13]. Источником и резервуаром природного бешенства являются дикие плотоядные, которые при контакте передают возбудитель домашним и сельскохозяйственным животным [6]. Наибольшее количество случаев инфицирования вирусом бешенства в группе сельскохозяйственных животных отмечают среди КРС [13]. Так, в 2017 г. в РФ зафиксировано 158 новых очагов инфекции, в которых вирус был выявлен именно у КРС [14].

В современных условиях в системе ветеринарно-санитарных мероприятий против бешенства одно из ведущих мест занимает специфическая профилактика, а также оценка ее эффективности по уровню накопления антирабических вируснейтрализующих антител (ВНА) [4, 10, 12]. Правильное и своевременное проведение вакцинации позволяет сдерживать распространение болезни и существенно снижать возможные экономические потери. Для профилактики бешенства применяют как живые, так и инактивированные вакцины [2, 7, 9, 11]. Основным способом борьбы с инфекцией в природе считается оральная антирабическая вакцинация, эффективность и надежность которой при правильном осуществлении не вызывает сомнений [3, 4].

Для профилактики и предотвращения распространения вируса бешенства среди домашних и сельскохозяйственных животных применяют культуральные инактивированные вакцины из различных штаммов вируса [2, 4, 9]. При разработке антирабических вакцин особое внимание уделяют их безопасности и эффективности. Для формирования напряженного и продолжительного иммунитета у привитых животных в качестве неспецифических стимуляторов иммуногенеза используют широкий спектр адъювантов, в частности гель гидрата окиси алюминия (ГОА) – при изготовлении сорбированных вакцин, масляные адъюванты – при производстве эмульсионных препаратов [1, 8].

Целью данной работы было изучение эффективности и безопасности применения для КРС антирабических инактивированных вакцин из штамма «ВНИИЗЖ» с использованием различных адъювантов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вакцины. Экспериментальные серии антирабических вакцин получали на основе вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ», репродуцированного в суспензионной клеточной субкультуре из почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21/2-17b). Инактивацию вируса бешенства проводили с использованием раствора аминоэтилэтиленимина (АЭЭИ). Для очистки суспензии инактивированного антигена вируса от балластных белков применяли раствор полигексаметиленгуанидина (ПГМГ). В качестве адъюванта использовали ГОА (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия) и ряд масляных адъювантов Montanide (SEPPIC, Франция). Характеристика опытных образцов вакцин представлена в таблице 1.

Животные. Для изучения поствакцинального иммунитета использовали 45 голов КРС черно-пестрой породы массой 250–300 кг в возрасте 9–12 месяцев.

Оценку авирулентности и безвредности антирабических вакцин проводили на белых мышах массой 10–12 г в количестве 90 особей.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33216-2014 и ГОСТ 33215-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2012 по охране животных, используемых в научных целях.

Определение титра инфекционной активности вируса бешенства. Инфекционную активность вируса бешенства определяли с помощью высокочувствительной монослойной клеточной линии нейробластомы мыши (N2a) с последующим окрашиванием антирабическим иммуноглобулином, меченным флуоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ). Значения титра вируса вычисляли с применением метода Спирмана-Кербера [15].

Иммунизация животных. Для проведения исследования КРС разделили на три группы по 10 голов в каждой. Животных первой группы иммунизировали инактивированной сорбированной вакциной подкожно в прививной дозе 5 см³, второй – инактивированной эмульсионной вакциной, полученной с применением адъюванта Montanide ISA 206, в дозе 2 см³, третьей – инактивированной эмульсионной вакциной, изготовленной с использованием адъюванта Montanide ISA 70,

Таблица 1
Антирабические вакцины на основе разных адъювантов, разработанные для иммунизации КРС

Номер образца	Тип вакцины	Адъювант	Соотношение адъювант/антиген	Тип эмульсии
1	инактивированная сорбированная	ГОА	90/10	–
2	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 206	50/50	W/O/W
3	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 70	70/30	W/O

W/O – вода/масло (обратная эмульсия);

W/O/W – вода/масло/вода (множественная эмульсия).

Таблица 2

Иммунизация КРС инактивированными антирабическими вакцинами на основе штамма «ВНИИЗЖ» с применением разных адъювантов

Номер образца	Наименование вакцины		Номер животных	Прививная доза, см ³	Способ введения
	тип	адъювант			
1	инактивированная сорбированная	ГОА	1–10	5	подкожно
2	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 206	11–20	2	внутримышечно
3	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 70	21–30	2	внутримышечно

в дозе 2 см³. Все представленные вакцинные препараты вводили однократно в цельном виде (табл. 2).

Определение количества антирабических ВНА. Основным методом оценки напряженности поствакцинального антирабического иммунитета у животных, рекомендованным МЭБ, является реакция нейтрализации в монослойной культуре клеток ВНК-21/2-17b (FAVN – fluorescent antibody virus neutralization). FAVN проводили согласно Руководству МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных, значения титра антирабических ВНА выражали в МЕ/см³. В соответствии с международными требованиями защитным является уровень ВНА против вируса бешенства $\geq 0,5$ МЕ/см³ [12, 17]. Сыворотки крови исследовали до вакцинации КРС и на 21 сут после нее.

Оценка авирулентности антигена вируса бешенства в культуре клеток. Полноту инактивации вируса бешенства контролировали инокуляцией в монослойную перевиваемую культуру клеток ВНК-21/2-17b в течение трех последовательных пассажей. Суспензию инактивированного вируса бешенства вносили в точную культуру клеток ВНК-21/2-17b и инкубировали при температуре (37,0 ± 0,5) °C в течение 1 часа. После экспозиции монослой омывали средой Игла МЕМ и вносили на поверхность клеток поддерживающую среду с 2% фетальной сыворотки КРС. Культуру клеток выдерживали при температуре (37,0 ± 0,5) °C в течение 4 сут. Далее проводили инкубирование монослоя с антирабическим иммуноглобулином, меченным ФИТЦ, и оценивали наличие или отсутствие специфического для вируса бешенства флуоресцентного свечения. В качестве положительного контроля использовали лиофильно высушенную суспензию неинактивированного вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ» с титром инфекционной активности 7,00 lg TCID₅₀/см³. Отрицательным контролем служила лиофильно высушенная суспензия инактивированного вируса бешенства. Материал считается авирулентным, если ни в одном из трех последовательных пассажей не обнаружено наличие флуоресцентного свечения, специфичного для вируса бешенства.

Оценка авирулентности антирабических вакцин на белых мышах. Сорбированную вакцину против бешенства разбавляли физиологическим раствором в 4 раза, полученную суспензию вводили интрацеребрально по 0,03 см³ 15 белым мышам.

Эмульсионные вакцины перед введением разрушали до выделения антигенной фазы. Для этого их под-

вергали 2–3-кратному замораживанию и оттаиванию, затем центрифугировали в течение 30 мин при 1000 g. Осевший на дне пробирки антиген использовали для испытаний путем интрацеребрального введения животным в объеме 0,03 см³ (по 15 особей на каждую вакцину). За животными вели наблюдение в течение 21 сут. Вакцина считается авирулентной, если все животные в течение всего срока наблюдения оставались клинически здоровыми – без проявления признаков, характерных для бешенства.

Оценка безвредности вакцины на белых мышах. Вакцинные препараты вводили 45 белым мышам (по 15 особей на каждый образец вакцин) внутрибрюшинно в дозе 0,05 см³ и наблюдали за клиническим состоянием животных в течение 21 сут. Вакцина признается безвредной, если все животные по итогам наблюдения остаются клинически здоровыми (без развития некротических процессов на месте введения препаратов).

Оценка безвредности вакцины на КРС. Вакцины вводили 15 животным (по 5 голов на каждый образец) в мышцы шеи в тройной дозе (для сорбированной – 15 см³, для эмульсионных – по 6 см³). За клиническим состоянием животных наблюдали на протяжении 14 сут. Вакцину считали безвредной при условии, если все животные на протяжении всего срока наблюдения оставались клинически здоровыми – без формирования некроза в области инокуляции.

Статистическая обработка данных. Исследования проводили в трех повторениях. Статистическая обработка данных заключалась в определении средних арифметических значений титра антирабических антител и достоверности статистической разницы между средними величинами в соответствии с методом Стьюдента-Фишера [5]. Построение диаграмм проводили с использованием пакета прикладных программ StatSoft (версия 6.0) и Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе работы проводили анализ полученного антигена вируса бешенства на авирулентность в монослойной культуре клеток ВНК-21/2-17b. По итогам исследования ни в одном из трех последовательных пассажей наличия специфического для вируса бешенства флуоресцентного свечения не выявлено, что свидетельствует о проведении полной инактивации антигена. При этом в лунках с положительным контролем отмечали явные признаки репродукции возбудителя бешенства. Монослой в лунках с отрицательным

Таблица 3
Оценка степени поствакцинального иммунитета КРС против бешенства в реакции нейтрализации после введения инактивированных антирабических вакцин с применением разных адьювантов ($n_{\text{исследований}} = 3, p < 0,005$)

Номер образца	Характеристика антирабической вакцины		Номер животного	Титр антирабических ВНА на 21 сут после иммунизации, МЕ/см ³
	тип	адьювант		
1	инактивированная сорбирующая	ГОА	1	3,40 ± 0,15
			2	5,90 ± 0,12
			3	4,50 ± 0,21
			4	2,60 ± 0,14
			5	3,40 ± 0,15
			6	2,00 ± 0,13
			7	2,60 ± 0,18
			8	4,50 ± 0,11
			9	5,90 ± 0,12
			10	3,40 ± 0,09
			<i>M ± m</i>	4,02 ± 0,79*
2	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 206	11	4,50 ± 0,20
			12	17,80 ± 0,15
			13	15,90 ± 0,24
			14	23,40 ± 0,21
			15	7,80 ± 0,14
			16	13,50 ± 0,11
			17	5,90 ± 0,08
			18	13,50 ± 0,17
			19	17,80 ± 0,18
			20	17,80 ± 0,07
			<i>M ± m</i>	16,30 ± 2,03*
3	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 70	21	23,40 ± 0,22
			22	17,80 ± 0,14
			23	23,40 ± 0,19
			24	15,90 ± 0,22
			25	17,80 ± 0,23
			26	10,30 ± 0,14
			27	23,40 ± 0,14
			28	23,40 ± 0,10
			29	13,50 ± 0,18
			30	30,80 ± 0,22
			<i>M ± m</i>	20,73 ± 3,39*

* Расчет $M \pm m$ проводили при анализе значений титра ВНА, находящихся в пределах нормального распределения в интервале ($\bar{x} - 2\sigma; \bar{x} + 2\sigma$). Для животных из группы 1 исключение составило значение 2,0 МЕ/см³, из группы 2 – 4,5; 5,9; 7,8 МЕ/см³, из группы 3 – 10,3 и 13,5 МЕ/см³.

контролем не был подвержен воздействию вируса бешенства, специфическое флуоресцентное свечение отсутствовало.

На следующем этапе исследования оценивали авирулентность и безвредность трех предложенных вариантов антирабических вакцин на белых мышах и КРС. Все животные, которым был введен препарат, в течение всего срока наблюдения оставались клинически

здоровыми, без проявления признаков бешенства и без формирования некроза тканей на месте введения, поэтому изготовленные вакцины признаны авирулентными и безвредными.

Следующий этап работы был посвящен изучению поствакцинального иммунитета у КРС в ответ на введение антирабических вакцин, изготовленных на основе штамма «ВНИИЗЖ» с разными адьювантами. Сыворотки

крови, полученные до вакцинации животных всех трех групп и спустя 21 сут после нее, исследовали методом FAVN (табл. 3, рис. 1–3). Результаты исследования показали, что сыворотки крови, отобранные до вакцинации, не содержали антител против вируса бешенства.

Из приведенных в таблице 3 данных следует, что инактивированные антирабические вакцины из штамма «ВНИИЗЖ» на 21 сут стимулировали выработку высокого уровня антител у привитых животных. После иммунизации сорбированной вакциной титры ВНА против вируса бешенства у 30% КРС составили 2,0–2,6 МЕ/см³, у 30% – 3,4 МЕ/см³, и у 40% – 4,5–5,9 МЕ/см³. После введения эмульсионной вакцины на основе адъюванта Montanide ISA 206 у 30% животных титры антирабических антител были равны 4,5–7,8 МЕ/см³, еще у 30% – 13,5–15,9 МЕ/см³, у остальных 40% – 17,8–23,4 МЕ/см³. Иммунизация вакцинным препаратом на основе адъюванта Montanide ISA 70 индуцировала у 20% животных выработку ВНА с титрами 10,3–13,5 МЕ/см³, у 30% – 15,9–17,8 МЕ/см³ и у 50% КРС – 23,4–30,8 МЕ/см³. Средние значения титра антирабических антител составили 4,02 ± 0,76; 16,30 ± 2,03; 20,73 ± 3,39 МЕ/см³ для вакцин № 1, 2, 3 соответственно. Следовательно, все экспериментальные антирабические вакцины, изготовленные из штамма «ВНИИЗЖ», стимулируют у КРС формирование поствакцинального иммунитета уже на 21 сут после инокуляции.

При проведении сравнительного анализа полученных результатов следует отметить, что эмульсионные антирабические вакцины вызывали формирование более напряженного иммунитета по сравнению с использованием сорбированного препарата. Так, среднее значение титра ВНА во 2-й группе животных было в 4,05 раза выше, а в 3-й группе в 5,16 раза выше, чем в 1-й группе КРС, привитого сорбированной вакциной.

Сравнивая средние значения титров антирабических антител у КРС, иммунизированных двумя представленными эмульсионными вакцинами на основе ISA 70 и ISA 206, выявили, что различие между ними менее значительное, чем с сорбированной, и составляет 4,43 МЕ/см³, или 1,27 раза в пользу препарата на основе ISA 70, что можно объяснить особенностями взаимодействия антигена вируса бешенства с выбранными адъювантами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведены исследования по изучению иммунологических свойств трех инактивированных антирабических вакцин из штамма «ВНИИЗЖ», изготовленных с применением разных адъювантов: ГОА, Montanide ISA 206 и ISA 70. Выявлено, что полученные антирабические вакцины являются авирулентными и безвредными при тестировании на белых мышах и КРС.

Проведена оценка поствакцинального иммунитета КРС после введения предложенных инактивированных антирабических вакцин. Выявлено, что на 21 сут после введения препаратов, полученных с применением адъювантов ГОА, Montanide ISA 206 и ISA 70, средние значения титров ВНА составили 4,02; 16,30; 20,73 МЕ/см³ соответственно.

Экспериментальные антирабические эмульсионные вакцины индуцируют выработку более высокого уровня ВНА у КРС по сравнению с сорбированной вакциной. Среднее значение титра ВНА в группе животных, которых иммунизировали эмульсионной вакциной на основе адъюванта Montanide ISA 206, было в 4,05 раза

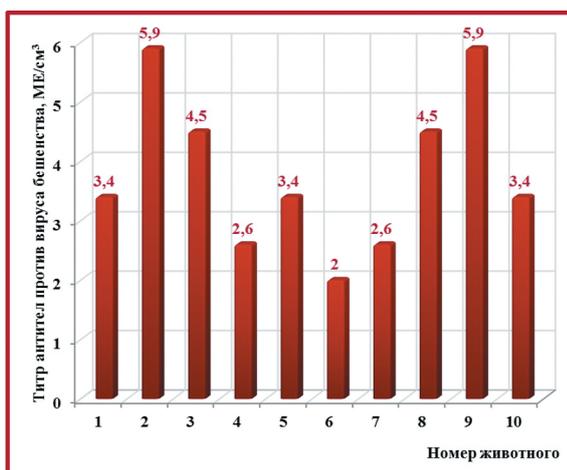


Рис. 1. Поствакцинальный иммунитет у КРС на 21 сут после введения инактивированной сорбированной антирабической вакцины (по данным реакции нейтрализации FAVN)

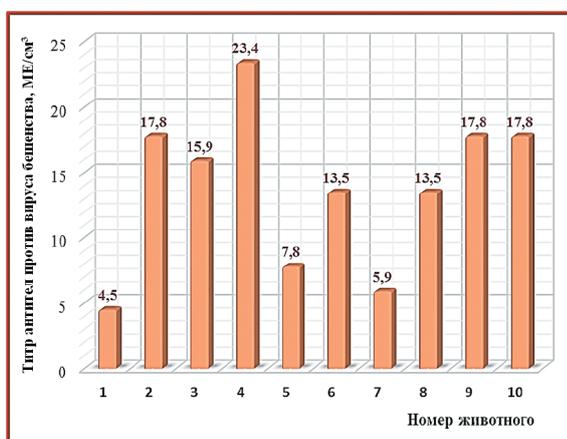


Рис. 2. Поствакцинальный иммунитет у КРС на 21 сут после введения инактивированной эмульсионной антирабической вакцины с использованием адъюванта Montanide ISA 206 (по данным реакции нейтрализации FAVN)

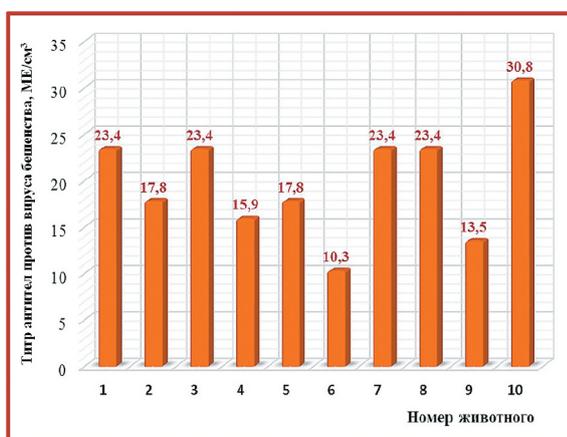


Рис. 3. Поствакцинальный иммунитет у КРС на 21 сут после введения инактивированной эмульсионной антирабической вакцины с использованием адъюванта Montanide ISA 70 (по данным реакции нейтрализации FAVN)

выше, а в группе КРС, вакцинированного препаратом на основе адьюванта Montanide ISA 70, – в 5,16 раза выше по сравнению с животными, привитыми сорбированной вакциной. Эмульсионная вакцина на основе масляного адьюванта ISA 70 показала более высокие результаты по уровню ВНА, чем при использовании других экспериментальных вакцин.

Полученные результаты исследований подтвердили, что разработанные антирабические препараты для иммунизации КРС безопасны и эффективны.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адьюванты: монография / А. Я. Самуйленко, С. А. Гринь, В. И. Еремеч [и др.]; под ред. А. Я. Самуйленко. – М.: ВНИИТБП, 2016. – 168 с.
2. Анализ иммуногенности вакцин, применяемых для профилактики бешенства животных на территории Российской Федерации / Е. В. Чернышова, Н. А. Назаров, А. Е. Метлин [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2010. – Т. 8. – С. 64–73.
3. Анализ эффективности оральной вакцинации против бешенства в дикой среде на примере некоторых регионов Российской Федерации / А. Ю. Сухарьков, Н. А. Назаров, А. Е. Метлин [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2010. – Т. 8. – С. 57–63.
4. Борисов А. В. Разработка технологии изготовления вирусвакцин против бешенства диких плотоядных: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Владимир, 2003. – 23 с.
5. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
6. Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. – Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2019. – 394 с.
7. Изучение колострального иммунитета у потомства енотовидных собак, иммунизированных оральной антирабической вирусвакциной «Синраб» / А. В. Борисов, И. А. Домский, В. В. Михалишин, А. Н. Балашов // Ветеринария и кормление. – 2013. – № 5. – С. 6–8.
8. Михалишин В. В., Мамков Н. С. Адьюванты и их использование // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2008. – Т. 6. – С. 340–371.
9. Недосеков В. В. Современные вакцины против бешенства животных // Ветеринария. – 2003. – № 8. – С. 23–25.
10. Оральная вакцинация диких плотоядных животных против бешенства / А. Е. Метлин, С. С. Рыбаков, В. В. Михалишин, Т. Н. Muller // Ветеринария. – 2009. – № 8. – С. 18–25.
11. Оценка поедаемости оральных антирабических вакцин / А. Ю. Сухарьков, Е. Ю. Чернышова, А. Е. Метлин [и др.] // Ветеринария. – 2011. – № 11. – С. 31–34.
12. Чернышова Е. В., Назаров Н. А., Метлин А. Е. Методические указания по определению вируснейтрализующих антител к вирусу бешенства в сыворотках крови животных в реакции нейтрализации в культуре клеток ВНК-21 (FAVN) // Методические указания по диагностике заболеваний сельскохозяйственных животных с использованием серологических реакций / ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). – Владимир, 2015. – С. 207–216.
13. Эпизоотическая обстановка по бешенству на территории России в октябре 2018 года / Россельхознадзор. – URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps/news/28513.html> (дата обращения: 30.10.18).
14. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации, 2017 год / сост.: О. Н. Петрова, А. К. Караулов, Н. С. Бардина [и др.]. – Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2018. – URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2017/iac2017.pdf> (дата обращения: 01.11.18).
15. Aubert M. F. A. Methods for the calculation of titres // Laboratory Techniques in Rabies / ed. F. X. Meslin, M. Kaplan, H. Koprowski. – 4th ed. – Geneva: WHO, 1996. – P. 445–459.
16. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). – URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>.
17. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees) / OIE. – 8th ed. – Paris, 2018. – Vol. 1, Chap. 3.1.17. – P. 578–612. – URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf.

REFERENCES

1. Adjuvants: monograph [Ad'yuvanty: monografiya]. A. Ya. Samuylenko, S. A. Grin, V. I. Yeremetz [et al.]; ed. by A. Ya. Samuylenko. M.: VNITIBP, 2016 (in Russian).
2. Immunogenicity analysis of the vaccine used for rabies prevention in the territory of the Russian Federation [Analiz immunogennosti vakcin, primenyaemykh dlya profilaktiki beshenstva zhitvotnykh na territorii Rossijskoj Federacii]. Ye. V. Chernyshova, N. A. Nazarov, A. Ye. Metlin [et al.]. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2010; 8: 64–73 (in Russian).
3. Analysis of the efficacy of oral rabies vaccination in wild nature based on the example of some regions in the Russian Federation [Analiz effektivnosti oral'noj vakcinacii protiv beshenstva v dikoj srede na primere nekotorykh regionov Rossijskoj Federacii]. A. Yu. Sukharkov, N. A. Nazarov, A. Ye. Metlin [et al.]. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2010; 8: 57–63 (in Russian).
4. Borisov A. V. Development of production technology for rabies vaccines in wild carnivores [Razrabotka tekhnologii izgotovleniya virusvakcin protiv beshenstva dikih plotoyadnykh]: author's abstract. ... candidate of veterinary science. Vladimir, 2003 (in Russian).
5. Glanz S. Medical and biological statistics [Mediko-biologicheskaya statistika]: translated from English. M.: Praktika, 1999 (in Russian).
6. Gruzdev K. N., Metlin A. Ye. Animal rabies [Beshenstvo zhitvotnykh]. Vladimir: FGBI "ARRIAH", 2019 (in Russian).
7. Study of colostral immunity in the offspring of raccoon dogs immunized with the "Sinrab" oral rabies virus vaccine [Izuchenie kolostral'nogo immuniteta u potomstva enotovidnykh sobak, immunizirovannykh oral'noj antirabicheskoy virusvakcinoj «Sinrab»]. A. V. Borisov, I. A. Doms-kij, V. V. Mikhailishin, A. N. Balashov. *Veterinaria i kormlenie*. 2013; 5: 6–8 (in Russian).
8. Mikhailishin V. V., Mamkov N. S. Adjuvants and their use [Ad'yuvanty i ih ispol'zovanie]. *Proceedings of the Federal Center for Animal Health*. 2008; 6: 340–371 (in Russian).
9. Nedosekov V. V. Modern vaccines against animal rabies [Sovremennye vakciny protiv beshenstva zhitvotnykh]. *Veterinariya*. 2003; 8: 23–25 (in Russian).
10. Oral vaccination of wild carnivores against rabies [Oral'naya vakcinaciya dikih plotoyadnykh zhitvotnykh protiv beshenstva]. A. Ye. Metlin, S. S. Rybakov, V. V. Mikhailishin, T. N. Muller. *Veterinariya*. 2009; 8: 18–25 (in Russian).
11. Evaluation of palatability of oral rabies vaccines [Ocenka poedae-mosti oral'nykh antirabicheskikh vakcin]. A. Yu. Sukharkov, E. Yu. Chernyshova, A. Ye. Metlin [et al.]. *Veterinariya*. 2011; 11: 31–34 (in Russian).
12. Chernyshova Ye. V., Nazarov N. A., Metlin A. Ye. Methodical guidelines for determination of virus-neutralizing antibodies against rabies virus in animal sera using neutralization test in BHK-21 cell culture (FAVN) [Metodicheskie ukazaniya po opredeleniyu virusneitralizuyushchih antitel k virusu beshenstva v sыворотках крови zhitvotnykh v reakcii nejtralizacii v kul'ture kletok VNK-21 (FAVN)]. *Methodical guidelines for diagnosis of livestock diseases using serological tests [Metodicheskie ukazaniya po diagnostike zaboлевaniy sel'skhozoyajstvennykh zhitvotnykh s ispol'zovaniem serologicheskikh reakcij]*. FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"). Vladimir, 2015; 207–216 (in Russian).
13. Rabies epidemic situation in the Russian Federation in October 2018 [Epizooticheskaya obstanovka po beshenstvu na territorii Rossii v oktyabre 2018 goda]. Rosselkhoz nadzor. URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps/news/28513.html> (date of reference: 30.10.18) (in Russian).
14. Rabies epidemic situation in the Russian Federation in 2017 [Epizooticheskaya situaciya v Rossijskoj Federacii, 2017 god]. compiler: O. N. Petrova, A. K. Karaulov, N. S. Bardina [et al.]. Vladimir: FGBI "ARRIAH", 2018. URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2017/iac2017.pdf> (date of access: 01.11.18) (in Russian).
15. Aubert M. F. A. Methods for the calculation of titres. *Laboratory Techniques in Rabies*. ed. F. X. Meslin, M. Kaplan, H. Koprowski. 4th ed. Geneva: WHO, 1996; 445–459.
16. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>.
17. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees). OIE. 8th ed. Paris, 2018; 1, Chap. 3.1.17: 578–612. URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf.

Поступила 21.09.19

Принята в печать 19.11.19