

# Разработка и применение тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего варианта ИФА для определения антигена вируса РРС при технологическом контроле вакцинного сырья

Е. П. Баборенко<sup>1</sup>, О. П. Бьядовская<sup>2</sup>, Д. А. Бирюченков<sup>3</sup>, А. В. Константинов<sup>4</sup>, Р. В. Яшин<sup>5</sup>

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

<sup>1</sup> ORCID 0000-0003-2177-9992, e-mail: baborenko@arriah.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-8326-7151, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru

<sup>3</sup> ORCID 0000-0002-4057-2367, e-mail: biruchenkov@arriah.ru

<sup>4</sup> ORCID 0000-0003-0281-0667, e-mail: konstantinov@arriah.ru

<sup>5</sup> ORCID 0000-0002-1385-705X, e-mail: yashin@arriah.ru

## РЕЗЮМЕ

Одной из наиболее актуальных проблем свиноводства остается репродуктивно-респираторный синдром свиней, который является эндемичным заболеванием и регистрируется в большинстве стран мира. К основным мерам борьбы с заболеванием относятся профилактическая вакцинация, контроль за передвижением животных как внутри страны, так и за ее пределами, а также постоянное проведение диагностических исследований в популяции свиней. В качестве средств специфической профилактики репродуктивно-респираторного синдрома свиней применяются живые и инактивированные вакцины. Основным требованием, предъявляемым к инактивированным препаратам, является полная и необратимая инактивация инфекционного агента при максимальной сохранности антигенной детерминанты и иммунная защита привитых животных. Поэтому актуальной задачей является постоянное совершенствование методов контроля качества вакцин на различных технологических стадиях их производства. В статье представлены результаты разработки тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего иммуноферментного анализа для выявления и определения активности антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в инфекционных и инактивированных вирусосодержащих препаратах клеточных культур на промежуточных этапах производства вакцинных биопрепаратов. Разработка тест-системы включала получение очищенного и концентрированного препарата антигена вируса, а также специфических гипериммунных сывороток крови кроликов. Специфичность очищенного и концентрированного антигена вируса подтверждали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Показано, что разработанная тест-система позволяет выявлять антиген вируса с исходным титром инфекционной активности в диапазоне от 4,87 до 7,21 Ig ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>, соответствующий значению титра (разведения) при постановке иммуноферментного анализа от 1:4 до 1:64. В результате проведенной работы были разработаны, прошли комиссионные испытания и утверждены ученым советом ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Методические рекомендации по выявлению антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в непрямом жидкофазном блокирующем варианте иммуноферментного анализа» (2019 г.).

**Ключевые слова:** репродуктивно-респираторный синдром свиней, иммуноферментный анализ, антиген.

**Благодарность:** Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

**Для цитирования:** Баборенко Е. П., Бьядовская О. П., Бирюченков Д. А., Константинов А. В., Яшин Р. В. Разработка и применение тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего варианта ИФА для определения антигена вируса РРС при промежуточном контроле вакцинного сырья. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 109–114. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-109-114.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Баборенко Елена Павловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: baborenko@arriah.ru.

## Development and use of indirect liquid-phase ELISA test system for detection of PRRS virus antigen during in-process control of raw materials intended for vaccine production

Ye. P. Baborenko<sup>1</sup>, O. P. Byadovskaya<sup>2</sup>, D. A. Biryuchenkov<sup>3</sup>, A. V. Konstantinov<sup>4</sup>, R. V. Yashin<sup>5</sup>

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

<sup>1</sup> ORCID 0000-0003-2177-9992, e-mail: baborenko@arriah.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-8326-7151, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru

<sup>3</sup> ORCID 0000-0002-4057-2367, e-mail: biruchenkov@arriah.ru

<sup>4</sup> ORCID 0000-0003-0281-0667, e-mail: konstantinov@arriah.ru

<sup>5</sup> ORCID 0000-0002-1385-705X, e-mail: yashin@arriah.ru

## SUMMARY

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) being endemic and reported in the most countries in the world remains one of the most challenging diseases in pig industry. The main disease control measures include preventive vaccination and animal movement control within and outside the country as well as diagnostic testing of pigs in the population. Live and inactivated vaccines are used for specific prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome. Complete and irreversible infectious agent inactivation with maximum epitope preservation and protective immunity in immunized animals are the main requirements for inactivated vaccines. Therefore, continuous improvement of methods for vaccine quality control at various vaccine production stages is of current importance. Results of development of the test system based on indirect liquid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for PRRS virus antigen detection and activity testing in infectious and inactivated virus-containing cell cultures at intermediate stages of the vaccine production process are described in the paper. The test-system development process included purified and concentrated virus antigen as well as hyperimmune rabbit sera preparation. Specificity of purified and concentrated virus antigen was confirmed with real-time polymerase chain reaction. The developed test-system was shown to detect the virus antigen at initial infectivity titre of  $4.87-7.21 \lg \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$  corresponding to ELISA titre (dilution) of 1:4 up to 1:64. Methodical Guidelines for detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antigen with indirect liquid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (2019) were developed based on the work results, commissioned and approved by the FGBI "ARRIAH" Scientific Board.

**Key words:** porcine reproductive and respiratory syndrome, enzyme-linked immunosorbent assay, antigen.

**Acknowledgements:** The work was funded by the FGBI "ARRIAH" as part of the research activities "Animal health and welfare".

**For citation:** Baborenko Ye. P., Byadovskaya O. P., Biryuchenkov D. A., Konstantinov A. V., Yashin R. V. Development and use of indirect liquid-phase ELISA test system for detection of PRRS virus antigen during in-process control of raw materials intended for vaccine production. *Veterinary Science Today*, 2020; 2 (33): 109–114. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-109-114.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**For correspondence:** Yelena P. Baborenko, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: baborenko@arriah.ru.

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PPCS) была и остается актуальной в большинстве стран мира с развитым свиноводством, в том числе и в России. В настоящее время PPCS является эндемичным заболеванием, и практически все страны мира, включая Россию, США, Китай, а также страны Западной Европы, несут большие экономические потери [1, 2].

Анализ проводимых в мире мероприятий в отношении PPCS показывает, что они сводятся в основном к профилактической вакцинации, контролю за передвижением животных как внутри страны, так и за ее пределами, а также постоянному проведению диагностических исследований в популяции свиней [3]. Профилактическая вакцинация животных с каждым годом охватывает все большее поголовье свиней. В связи с этим актуальной задачей является постоянное совершенствование как вакцинных препаратов, так и методов их контроля на этапах изготовления.

Известно, что изготовление противовирусных инактивированных препаратов является сложным технологическим процессом, и основное требование, предъявляемое к такой вакцине, – полная и необратимая инаktivация инфекционного агента при максимальной сохранности антигенной детерминанты и иммунная защита привитых животных.

Основопологающим условием эффективности выпускаемой против PPCS вакцины является качественная и количественная характеристика вирусного антигена. Если на этапе наработки вирусного сырья инфекцион-

ную активность вируса можно контролировать методом титрования на чувствительной культуре клеток, то после его инаktivации определять количественный параметр антигена PPCS, характеризующий способность индуцировать иммунный ответ, затруднительно.

Целью исследования являлась разработка метода, предоставляющего возможность определения активности антигена PPCS как в культуральном вируссодержащем сырье, так и в вакцинном полуфабрикате.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Антиген.** В работе использовали вакцинный штамм «КПР-96» европейского генотипа вируса PPCS (коллекция штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ»), выращенный на перевиваемой культуре клеток Магс-145 (почки макаки-резуса), которая является трофовариантом клеточной культуры МА-104, с титром инфекционной активности  $4,87-7,21 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ , инаktivированный аминоэтилэтиленимином.

**Животные.** В опытах использовали лабораторных животных – серонегативных кроликов породы шиншилла живой массой 2–2,5 кг, а также клинически здоровых поросят в возрасте двух месяцев живой массой 20–25 кг, полученных из благополучных по PPCS хозяйств.

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 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

**Специфические гипериммунные сыворотки.** Использовали специфические гипериммунные сыворотки кролика, полученные в результате трехкратной иммунизации предварительно очищенным и концентрированным эмульгированным антигеном с добавлением масляного адъюванта.

**Антивидовой конъюгат.** В качестве антивидового конъюгата использовали иммуноглобулины против IgG (H+L) кролика, конъюгированные пероксидазой хрена (Sigma, США).

**Исследуемые препараты:** культуральные пробы вируса и антигена, полученные при наработке вакцинного сырья с разной инфекционной активностью, отобранные на разных стадиях производства. В качестве отрицательного контроля использовали суспензию аналогичной исследуемому образцу нормальной неинфицированной культуры клеток, а также антигены вируса болезни Ауески (БА) и возбудителя парвовирусной инфекции свиней (ПВИС). В качестве положительного контроля – вирусосодержащий культуральный препарат с известным инфекционным титром.

**Методы.** В работе использовали общепринятые методы культивирования вируса РРСС, определения титра инфекционной активности, получения антигена путем инактивации вируса и концентрирования низкоскоростным центрифугированием; реакцию микронейтрализации (РНН); метод Бредфорда для измерения концентрации белка; полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Иммуноферментный анализ (ИФА) проводили согласно разработанным в ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Методическим рекомендациям по выявлению антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в непрямом жидкофазном блокирующем варианте иммуноферментного анализа» [4].

Для исследования сывороток крови свиней на наличие специфических антител против вируса РРСС использовали набор Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Antibody Test Kit (IDEXX, USA), учет результатов проводили согласно инструкции по применению набора.

**Статистическая обработка результатов.** Использовали стандартные методы обработки выборок варьирующих переменных, а также элементы корреляционно-регрессионного анализа. Вычислительные операции и графические построения выполняли с помощью приложения Microsoft Office Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важных этапов при разработке тест-системы ИФА является получение активного и специфического антигена. Вирусосодержащую культуральную жидкость очищали от балластных белков и фрагментов клеток низкоскоростным центрифугированием на центрифуге Beckman Coulter J-26 XP (США) с использованием ротора JA-14 в течение 40 мин при 4500 об/мин.

Полученную осветленную надосадочную жидкость центрифугировали при 17 000 об/мин в течение 2,5 ч на центрифуге Beckman Coulter J-26 XP (США) с ротором JA-18, после чего надосадочную жидкость удаляли, а осадок ресуспендировали в 10 мл ТНЕ-буфера.

Для дальнейшей очистки и концентрирования антигена вируса РРСС ресуспендированный осадок центрифугировали через слой 30%-й сахарозы при 27 000 об/мин на высокоскоростной центрифуге Beckman Coulter Optima L-80 XP (США) с ротором SW-28 в течение 2,5 ч. Полученный осадок ресуспендировали в ТНЕ-буфере в соотношении 100:1 от начального объема.

Специфичность очищенного и концентрированного препарата антигена вируса РРСС подтверждали методом ПЦР-РВ. Все тестируемые в ПЦР-РВ образцы антигенов вируса имели пороговое значение меньше 35 (С)



Рис. 1. Активность специфической и нормальной сывороток крови кролика в разведении 1:100

Fig. 1. Specific and normal rabbit serum activity, 1:100 dilution

Таблица 1

Сравнительная оценка инфекционной и антигенной активности вируса РРСС, определенной методом титрования и с помощью ИФА

Table 1

Comparative testing of PRRS virus for its infectivity and antigenicity with titration and ELISA

Характеристика образца	Количество проб	Среднее значение титра, Ig ТЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup>	Среднее значение титра в ИФА* (разведения)
Вирусодержащая суспензия (до инактивации)	25	4,87 ± 0,12	1:4
Вирусодержащая суспензия (до инактивации)	75	5,67 ± 0,19	1:8 – 1:16
Антигенсодержащая суспензия (инактивированная)	75	не исследовали	1:8
Вирусодержащая суспензия (×10 концентрат антигена РРСС) (до инактивации)	10	7,21 ± 0,11	1:32 – 1:64
Антигенсодержащая суспензия (×10 концентрат антигена РРСС) (инактивированная)	10	не исследовали	1:32 – 1:64
Супернатант (до инактивации)	10	1,15 ± 0,09	< 1:2
Вирусодержащая суспензия (×3 концентрат антигена РРСС) (до инактивации)	15	6,15 ± 0,14	1:16 – 1:32
Супернатант (до инактивации)	15	1,35 ± 0,12	< 1:2
Антигенсодержащая суспензия (×3 концентрат антигена РРСС) (инактивированная)	15	не исследовали	1:16 – 1:32
Супернатант (инактивированный)	15	не исследовали	< 1:2
Отрицательный контроль (культуральная жидкость нормальной неинфицированной вирусом РРСС культуры клеток)	5	0	< 1:2
Отрицательный контроль (антиген вируса ПВИС)	5	0	< 1:2
Отрицательный контроль (антиген вируса БА)	5	0	< 1:2

\* Результат ИФА в титрах: &gt; 1:2 – положительно; &lt; 1:2 – отрицательно.

\* ELISA result in titres: &gt; 1:2 – positive; &lt; 1:2 – negative.

и были в диапазоне от 17 до 23 (C<sub>1</sub>), что свидетельствовало о высоком содержании вируса в препаратах.

Концентрация белка в препаратах антигена вируса РРСС, полученная по методу Бредфорда с использованием стандартных растворов бычьего сывороточного альбумина при длине волны 595 нм, составила 0,5–1,0 мг/мл. Очищенный и концентрированный антиген был использован для получения специфических гипериммунных сывороток, необходимых для разработки тест-системы на основе ИФА.

Разработка тест-системы включала в себя выбор оптимального разведения антигена, специфической гипериммунной сыворотки и антивидового конъюгата. Учет результатов реакции производился с применением спектрофотометра Sunrise (Тесап, Австрия) при длине волны 405 нм. Разработка тест-системы предусматривала подбор приемлемых буферных систем и блокирующих растворов, определение времени адсорбции компонентов реакции и температурного режима.

Оптимальное разведение антигенов определяли для каждой партии путем постановки ИФА методом последовательных разведений. За рабочее разведение принимали последнее разведение антигена, в котором значение оптической плотности (ОП) контрольной положительной сыворотки было в диапазоне от 1,0 до 1,5 о. е. (при исследовании сывороток в разведении

1:100), а значение ОП отрицательной сыворотки не превышало 0,25 о. е. Данные представлены на рисунке 1.

Исходя из полученных данных, рабочими разведениями антигена РРСС были приняты те, в которых значения ОП контрольной положительной сыворотки составляли от 1,0 до 1,2 (при исследовании сывороток в разведении 1:100), что соответствовало разведению антигена 1:50–1:100 (P/N 8,8–8,75).

Таким образом, в результате проведенной работы были разработаны, прошли комиссионные испытания и утверждены ученым советом ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Методические рекомендации по выявлению антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в непрямом жидкофазном блокирующем варианте иммуноферментного анализа» (2019 г.) [4].

Следующим этапом работы стала оценка чувствительности и специфичности разработанной тест-системы. С использованием предложенной методики проведено исследование вирусодержащих образцов как до, так и после инактивации, а также антигена вируса на различных этапах очистки и концентрирования. Результаты представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, наблюдается прямая зависимость между значениями инфекционных титров и разведениями в ИФА. Так, например, 10-кратный концентрат вируса имеет

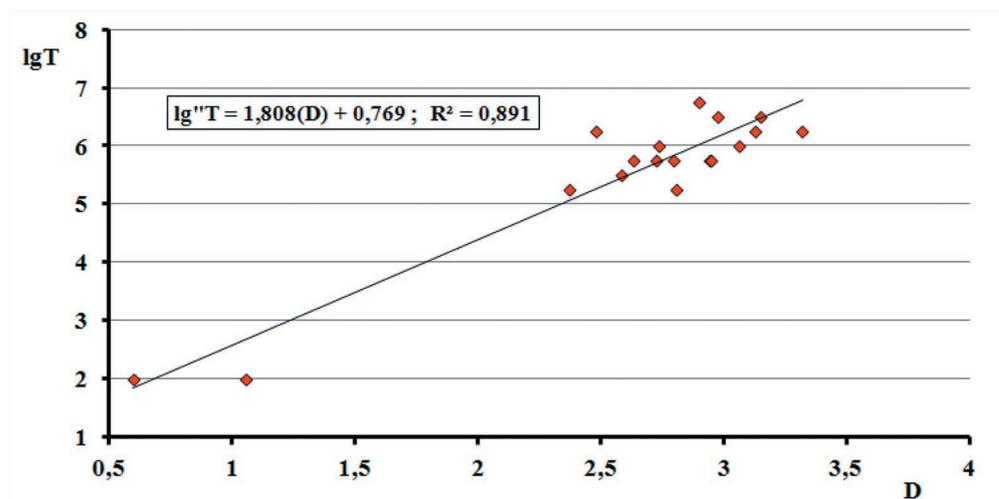


Рис. 2. Логарифмические оценки титра инфекционной активности вируса ( $\lg T$ ,  $\blacklozenge$ ), установленные в тестируемых образцах культуральной жидкости соответственно показателям относительного количества реагирующего антигена ( $D$ ) в ИФА

Fig. 2. Logarithmic titres of the virus infectivity ( $\lg T$ ,  $\blacklozenge$ ) determined for tested cultural fluid samples corresponding to relative amounts of ELISA-reacting antigen ( $D$ )

инфекционный титр  $7,21 \pm 0,11 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ , а в ИФА – 1:32 – 1:64 как до, так и после инактивации; 3-кратный концентрат вируса имеет инфекционный титр  $6,15 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ , в ИФА – 1:16 – 1:32 как до, так и после инактивации. В то же время супернатанты с инфекционным титром  $1,15 \pm 0,09$  и  $1,35 \pm 0,12 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$  имеют отрицательные значения в ИФА –  $< 1:2$ .

По результатам многочисленных опытов определяли зависимость между данными, полученными с применением разработанного непрямого жидкофазного варианта иммуоферментного анализа, и титром инфекционной активности вируса ( $T$ ,  $\text{ТЦД}_{50}$ ), установленным в тестируемом образце вирусосодержащей культуральной жидкости. В качестве показателя, который при проведении ИФА характеризует относительное количество реагирующего антигена, приняли величину  $D = K/S$ , где  $K$  и  $S$  – оптические плотности отрицательного контроля и тестируемого образца соответственно. Величину  $D$  считали оценкой независимого параметра, значение  $\lg T$  – оценкой зависимого параметра.

Полученные результаты в графическом виде представлены на рисунке 2.

На рисунке 2 приведена регрессионная модель исследуемых параметров вида  $\lg T = 1,808(D) + 0,769$ , где  $\lg T$  – ожидаемая величина титра для заданного значения  $D$ ; показан коэффициент адекватности модели  $R^2 = 0,891$ .

Полученные данные свидетельствуют о том, что между относительным количеством антигена ( $D$ ), реагирующего в ИФА, и логарифмической величиной титра вируса ( $\lg T$ ) существует выраженная корреляционная зависимость, характеризуемая коэффициентом корреляции ( $R = 0,944$ ). Построенная модель соответствия указанных параметров вида  $\lg T = 1,808(D) + 0,769$  охватывает не менее 89,1% эмпирических точек. В диапазоне  $2 \leq D \leq 3,15$  модель позволяет прогнозировать величину инфекционного титра образца со статистической неопределенностью (ошибкой регрессии)  $m \leq 0,18 \lg$ .

В результате проведенных исследований показано, что разработанный чувствительный и специфичный

конкурентный жидкофазный вариант ИФА может использоваться на промежуточных этапах лабораторного контроля при изготовлении антигена вируса РРСС для определения активности вакцинного полуфабриката.

В рамках лабораторного опыта проводили оценку уровня специфических антител у поросят, иммунизированных внутримышечно в дозе  $2 \text{ см}^3$  испытуемой вакциной, изготовленной из антигена с различной инфекционной активностью вируса, определенной методом титрования и с помощью разработанной

Таблица 2  
Изучение антигенных свойств вакцины против РРСС инактивированной эмульгированной с различной активностью антигена

Table 2  
Tests of inactivated emulsion anti-PPRS vaccine samples demonstrating different antigen activity for their antigenic properties

Вакцина против РРСС инактивированная эмульгированная	Активность вируса/антигена РРСС		Антигенная активность вакцины (средний уровень антител) по группе поросят через 28 сут после вакцинации	
	до инактивации ( $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ )	после инактивации (ИФА)	ИФА ( $s/p$ )	PMH ( $\log_2$ )
Образец № 1	5,0	1:4	10/3* $0,31 \pm 0,06$	$< 2,0$
Образец № 2	5,75	1:8	10/8* $0,58 \pm 0,1$	$2,74 \pm 0,12$
Образец № 3	6,25	1:16	10/10* $1,1 \pm 0,1$	$3,57 \pm 0,11$

\* Количество исследованных/положительных проб.

Значение ИФА:  $s/p < 0,4$  – специфические антитела отсутствуют;  $s/p \geq 0,4$  – наличие специфических антител.

Значение PMH:  $< 2,0$  – специфические антитела отсутствуют;  $\geq 2,0$  – наличие специфических антител.

\* Number of tested/positive samples.

ELISA result:  $s/p < 0,4$  – no specific antibodies;  $s/p \geq 0,4$  – presence of specific antibodies.

MNA results:  $< 2,0$  – no microneutralization antibodies;  $\geq 2,0$  – presence of specific antibodies.

тест-системы ИФА. Исследования сывороток крови поросят проводили согласно инструкции по применению набора Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Antibody Test Kit (IDEXX, USA). Результаты представлены в таблице 2.

До вакцинации все животные были серонегативны к вирусу РРСС. Через 28 сут после иммунизации у поросят, привитых образцом вакцины № 1 с активностью антигена вируса РРСС в ИФА 1:4, только 30% животных имели специфические антитела к вирусу РРСС, в то время как образцы вакцины № 2 и № 3 с активностью антигена вируса РРСС в ИФА 1:8 и выше обеспечивали у привитого свинопологоья формирование выраженного иммунного ответа, определяемого как в ИФА, так и в РМН.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований разработана иммуноферментная тест-система для количественной оценки антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в тестируемых образцах полуфабриката вакцины против данного заболевания на промежуточных этапах лабораторного контроля. При этом получены специфические компоненты реакции, установлены величины пороговых показателей, определена зависимость между относительным количеством антигена, реагирующим в ИФА, и логарифмической величиной титра вируса, характеризующей коэффициентом корреляции  $R = 0,944$ . Используемый в вакцине антиген инактивированного вируса РРСС с активностью в ИФА не менее 1:8 – 1:16 способствует появлению специфического иммунитета, что подтверждается наличием специфических к вирусу РРСС антител у животных в диагностических значениях.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 2, 3 см. REFERENCES)

1. Пузанкова О. С., Гаврилова В. Л., Шевцов А. А., Баборенко Е. П., Кондакова Ж. С. Выявление специфических антител к вирусу РРСС с помощью РМН. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2011; 1: 35–40. eLIBRARY ID: 15615534.

4. Баборенко Е. П., Бьядовская О. П., Кондакова Ж. С., Яшин Р. В. Методические рекомендации по выявлению антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в непрямом жидкофазном блокирующем варианте иммуноферментного анализа: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 10.01.2019 г. № 79-18. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2019. 24 с.

### REFERENCES

1. Puzankova O. S., Gavrilova V. L., Shevtsov A. A., Baborenko Ye. P., Kondakova Zh. S. Detection of specific antibodies against PRRS virus using microneutralization test. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2011; 1: 35–40. eLIBRARY ID: 15615534. (in Russian)

2. Ouyang K., Hiremath J., Binjawadagi B., Shyu D. L., Dhakal S., Arcos J., et al. Comparative analysis of routes of immunization of a live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in a heterologous virus challenge study. *Vet. Res.* 2016; 47:45. DOI: 10.1186/s13567-016-0331-3.

3. Zhou L., Kang R., Zhang Y., Yu J., Xie B., Chen C., et al. Emergence of two novel recombinant porcine reproductive and respiratory syndrome viruses 2 (lineage 3) in Southwestern China. *Vet. Microbiol.* 2019; 232: 30–41. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.01.026.

4. Baborenko Ye. P., Byadovskaya O. P., Kondakova Zh. S., Yashin R. V. Methodical Guidelines for detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antigen with indirect liquid-phase enzyme-linked immunosorbent assay [Metodicheskie rekomendatsii po vyuyavleniyu antigena virusa reproductivno-respiratornogo sindroma svinej v nepryamom zhidkofaznom blokiryuyushchem variante immunofermentnogo analiza]: approved by the FGBl "ARRIAH" on 10.01.2019 No. 79-81. Vladimir: FGBl "ARRIAH"; 2019. 24 p. (in Russian)

Поступила 28.03.2020

Принята в печать 19.05.2020

Received on 28.03.2020

Approved for publication on 19.05.2020

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Баборенко Елена Павловна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Бьядовская Ольга Петровна**, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Бирюченков Дмитрий Анатольевич**, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Константинов Алексей Владимирович**, кандидат ветеринарных наук, начальник испытательного центра ветеринарных препаратов, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Яшин Роман Владимирович**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Yelena P. Baborenko**, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBl "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Olga P. Byadovskaya**, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBl "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Dmitriy A. Biryuchenkov**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Prevention, FGBl "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Alexey V. Konstantinov**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Veterinary Medicinal Product Testing Centre, FGBl "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Roman V. Yashin**, Candidate of Science (Biology), Head of Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBl "ARRIAH", Vladimir, Russia.