DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-2-1

УДК 619:616.9:577.27:573

Вклад ФГБНУ ВНИТИБП в развитие отечественной биотехнологии и обеспечение ветеринарного благополучия

Гринь С.А.
Grin S.A.

Гринь С.А., д. б. н., чл.- корр. РАН, профессор, директор,

Пухова Н.М., к.б.н., зав. лабораторией вирусологии

Еремец В.И., д.б.н., зам. директора по научной работе

Матвеева И.Н., д.б.н., зам. директора по бионанотехнологиям

Клюкина В.И., д.б.н., зав. отделом иммунологии

Раевский А.А., к.т.н., зам. директора по научно-техническим вопросам

Авдеева Т.А., к.б.н., зав. НОО

Маркова Е.В., к.с/х.н., с.н.с.

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности", г. Щелково Московской области, e-mail: vnitibp@mail.ru

Ключевые слова: биотехнология, вакцины, болезнь Марека, бешенство, биобезопасность, импортозамещение.

Резюме. Представлены обобщенные результаты 50-летней деятельности ФГБНУ ВНИТИБП, причины объективной необходимости его создания и роль в развитии биологической промышленности. На примерах вирусных вакцин против болезни Марека и бешенства животных показана методология разработки новых препаратов от проблемно-ориентированных исследований до внедрения в производство и использования в ветеринарной практике.

В начале 70-х годов неблагополучие по болезни Марека (БМ) было выявлено в 76% обследованных хозяйств страны. Быстрое распространение заболевания и значимый экономический ущерб создавали угрожающее положение для птицеводства. Возникла потребность в плановой вакцинации. Были изучены иммунобиологические свойства 7 штаммов вируса герпеса индейки (5 зарубежных и 2 выделенных во ВНИТИБП) и, в качестве вакцинного, был отобран штамм вируса FC-126. В результате исследований впервые в стране были созданы культуральные вакцины против болезни Марека (жидкая и сухая). В период испытаний экономический эффект от их использования составил в хозяйствах яичного и мясного направления 360 и 280 руб. на 1 тыс. голов привитой птицы соответственно. Вакцины выпускаются на ФКП "Курская

Contribution of FSBI VNITIBP to the development of domestic biotechnology and ensuring veterinary well-being

Grin S.A., Pukhova N.M., Eremets V.I., Matveeva I.N., Klukina V.I., Raevsky A.A., Avdeeva T.A., Markova E.V. Federal State Budgetary Institution "All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Biological Industry", Shchelkovo, Moscow Region, e-mail: vnitibp@mail.ru

Key words: biotechnology, vaccines, Marek's disease, rabies, biosafety, import substitution.

Abstract. The generalized results of 50 years of activity of the FSBI VNITIBP, the reasons for the objective necessity of its creation and the role in the development of the biological industry are presented. The examples of viral vaccines against Marek's disease and rabies in animals show a methodology for the development of new drugs from problem-oriented studies to introduction into production and use in veterinary practice.

At the beginning of the 70s, problems with Marek's disease (BM) were detected in 76% of the surveyed households in the country. The rapid spread of the disease and significant economic damage created a threat to the poultry industry. There was a need for planned vaccination. The immunobiological properties of 7 strains of turkey herpes virus (5 foreign and 2 isolated in VNITIBP) were studied and, as a vaccine, the FC-126 virus strain was selected. As a result of research, for the first time in the country, cultural vaccines against Marek's disease (liquid and dry) were created. During the test period, the economic effect of their use amounted to 360 and 280 rubles in the farms of egg and meat production per 1000 heads of vaccinated birds, respectively. Produced at the "Kursk Biofactory-Firm" BIOC, it is widely used in poultry farms, providing epizootic well-being for Marek's disease.

A breakthrough in vaccinology was made during the development of the first culture inactivated vaccines against animal rabies - for the first time in the world, the possibility of large-scale use of the stable cell line BHK-21/13 for the industrial production of rabies virus was proved. The "Shchelkovo-51" rabies virus vaccine strain was obtained and deposited, 3-stage cell and virus banks were laid, a new generation of domestic bioreactors (from 5 to 600 L) and instruments was created, and a method for the controlled cultivation of infected cells and the production of inactivated rabies vaccines was developed. Many technological methods and solutions were carried out at the inventive level. Vaccines are currently being issued at the FKP Shchelkovo Biocombine and are widely used in the country to combat rabies in animals.

Для цитирования / For citation

Вклад ФГБНУ ВНИТИБП в развитие отечественной биотехнологии и обеспечение ветеринарного благополучия / С.А.Гринь [и др.] Ветеринария и кормление. - 2020. - №2. С.4-8.
Contribution of FSBI VNITIBP to the development of domestic biotechnology and ensuring veterinary well-being / S.A. Grin [et al.] Veterinaria i kormlenie. - 2020. - №2. P.4-8.

биофабрика-фирма "БИОК" и широко применяются для плановой вакцинации, обеспечивая эпизоотическое благополучие по болезни Марек.

При разработке первых культуральных инактивированных вакцин против бешенства животных был сделан прорыв в вакцинологии – впервые в мире была доказана возможность крупномасштабного использования стабильной линии клеток ВНК-21/13 для промышленного получения вируса бешенства. Был получен и депонирован вакцинный штамм вируса бешенства "Щелково-51", заложены 3-ступенчатые банки клеток и вируса, создано новое поколение отечественных биореакторов (от 5 до 600 л) и приборов, разработан способ управляемого культивирования инфицированных клеток и производства инактивированных антирабических вакцин.

Многие технологические приемы и решения были выполнены на изобретательском уровне. Вакцины выпускаются в настоящее время на ФКП "Щелковский биокомбинат" и широко применяются в стране для борьбы с бешенством животных.

Введение

В 70-е годы в стране проходило бурное развитие сельского хозяйства, в том числе животноводства и птицеводства (рис.1). Быстрыми темпами увеличивалось поголовье скота и птицы. Переход отрасли на крупномасштабный интенсивный путь развития: стойловое и клеточное содержание животных, использование прогрессивных методов селекции и завоз из-за рубежа высокопродуктивных пород и кроссов [1,2], потребовали для поддержания ветеринарного благополучия увеличения количества и качества биопрепаратов.

Возникла объективная необходимость разработки более современных технологий производства профилактических, лечебных и диагностических препаратов. Под руководством И.В.Звягина, начальника Главного управления биологической промышленности МСХ СССР началась реконструкция биопредприятий и в 1969 г. было принято решение о создании научно-исследовательского и технологического института.

Рис.1 Динамика роста поголовья КРС в 60-90 –х годах XX века [1]
Fig. 1 Growth dynamics of cattle in the 60-90s of the twentieth century [1]

Рисунок 2 - Основные критерии эффективности универсальной этанол-вакцины против бешенства животных (УНИРЭВ)
Figure 2 - The main criteria for the effectiveness of the universal ethanol vaccine against animal rabies (UNIREV)

Таблица 1. Антителоиндуцирующая активность сухой ГОА-вакцины в опытах на крупном рогатом скоте (n=6)			
Table 1. Antibody-inducing activity of dry GOA vaccines in experiments on cattle (n = 6)			
Тип вакцины	Активность антител в сыворотке крови вакцинированных животных, МЕ/мл		
	До вакцинации	через 45 дней после вакцинации	через 350 дней после вакцинации
ГОА-вакцина (опыт)	0	4,28±0,45	0,51±0,09
Рабавак (контроль)	0	4,33±0,40	0,09±0,04

Таблица 2. Культуральные инактивированные антирабические вакцины из ВБ бешенства, штамм «Щелково-51», разработанные во ВНИТИБП		
Table 2. Cultured inactivated rabies vaccines from rabies VR, strain "Schelkovo-51", developed in VNITIBP		
Название вакцины	Состав, технология (область применения)	НТД на препарат
РАБИКОВ	Жидкая ГОА – вакцина, роллерная, (для КРС, МРС и лошадей)	ТУ 9384-023-00482915-01
СКИАВ + РКАВ	Сухая + растворитель (р-р сапонины) (для крупного и мелкого рогатого скота)	ТУ9384-025-00482915-01 ТУ9384-028-00482915-01
РАБИКАН	Сухая + растворитель (для кошек и собак)	ТУ9384-028-00482915-01
РАБАВАК	Сухая адъювант-вакцина с сапонином, на микроносителях в биореакторах, (для КРС и МРС)	ТУ 9384-035-0048915-03
Вакцина антирабическая для животных (УНИРЭВ)	Жидкая этанол-вакцина, на микроносителях в биореакторах (для КРС, МРС, собак, кошек и др. видов животных)	Патент RU № 2366457, 10.09.2009. НТД
Сухая ГОА-вакцина	Сухая ГОА-вакцина, суспензионная (для КРС и МРС)	Патент RU № 2402348, 27.10.2010, НТД
Референс-сыворотка из крови гиперим. быков	Сухая (национальный стандарт), нейтрализующая активность к вирусу бешенства 1серотипа ≥10 МЕ/мл	ТУ 9388-132-00494189-05
Референс-вакцина	Сухая (национальный отраслевой стандарт) с иммуногенной активностью ≥1,8 МЕ/мл	ТУ 10-19-58-89 СТО 00494189-0042-2010
Референс-сыворотка из крови гиперим. баранов	Сухая (национальный стандарт), нейтрализующая активность к вирусу бешенства 1серотипа ≥20 МЕ/мл	Патент RU №2609766, 02.02.2017.

За время своей деятельности коллектив института внес большой вклад в область развития современных промышленных технологий производства биопрепаратов для животных, в нем сложилась широко известная в стране и за рубежом научная школа промышленной биотехнологии [3].

Основными видами деятельности института являлись: проведение фундаментальных и приоритетных прикладных исследований в области биотехнологии и ветеринарии; разработка средств диагностики, специфической профилактики и терапии инфекционных болезней животных; создание перспективных видов лечебно-профилактической продукции на основе биологически активных веществ и сырья природного происхождения; проведение исследований иммунного статуса животных и поствакцинального иммунитета; внедрение систем менеджмента качества по требованиям GLP и GMP и ISO 9001 для разработчиков и производителей лекарственных средств; методология решения экологических и санитарных проблем предприятий АПК; маркетинговые исследования по анализу и прогнозу развития агробиологической промышленности; издание научных трудов, материалов конференций, методических пособий; оказание научно-консультативных услуг и участие в подготовке специалистов для биологической промышленности.

Цель данной статьи – на примере разработки двух культуральных противовирусных вакцин против болезни Марека и бешенства животных, как наиболее высокотехнологичных и востребованных в стране, показать методологию научных и прикладных исследований от проблемно-ориентированных до внедрения в производство и ветеринарную практику. В работе были использованы новейшие достижения молекулярной биологии и вирусологии, это позволило создать инновационные технологии на высоком научном и технологическом уровне и получить высокий экономический эффект при производстве и при использовании по назначению для целевых животных.

Культуральные вакцины против болезни Марека. Болезнь Марека (БМ) регистрировалась практически во всех странах мира с развитым птицеводством и наносила огромный экономический ущерб. Он складывается из повышенного отхода птиц, снижения их продуктивности и дополнительных расходов на ветеринарно-санитарные мероприятия. Смертность от инфекции колеблется от единичных случаев до 70–80%. При классической форме заболевания поражаются до 10% стада, при острой – 30%. Основным методом борьбы с болезнью Марека является специфическая профилактика [4].

В России болезнь Марека под названием "нейролимфоматоз птиц" впервые зарегистрировали в 30–40-е годы, когда в США, Англии и Европе была эпизоотия БМ. В начале 70-х годов неблагополучие по заболеванию уже было выявлено в 76% обследованных хозяйств. Быстрое распространение заболевания и высокий экономический ущерб создавали угрожающее положение для птицеводства. Возникла потребность в плановой вакцинации.

Наиболее известной и широко распространенной во всем мире считалась вакцина на основе вируса герпеса индейки (ВГИ), штамм FC-126. Были изучены свойства 7 штаммов ВГИ (5 зарубежных и 2 выделенных во ВНИТИБП), в качестве производственного для разработки отечественной вакцины был отобран штамм FC-126, как наиболее коррелирующий с иммуногенностью. Штамм легко стабилизировался во внеклеточном состоянии, был менее опасным для цыплят и не требовал аттенуации.

Для размножения ВГИ в культуре клеток эмбрионов птиц за рубежом использовали эмбрионы СПФ птиц. В нашей стране в тот период отсутствовали СПФ-хозяйства, поэтому для инициации исследований были выбраны перепела, учитывая их естественную устойчивость к вирусам.

Для научного обоснования промышленной техноло-

гии производства культуральной вакцины были изучены особенности взаимодействия вируса с клеткой и условия репродукции клеточно-связанного вируса. Было установлено, что во вращающихся сосудах урожай клеток в моно-слое и, соответственно, вирусов увеличивался на единицу площади почти в 10 раз. Поэтому для масштабирования процесса и внедрения в производство были сконструированы роллерные аппараты, в том числе и производственных масштабов (Авт. свид-во на промышленный образец №12088, 20.04.1981).

В результате комплексных исследований с участием сотрудников ВНИТИБП, ВНИВИП и ВГНКИ впервые в стране были созданы жидкая и сухая культуральные вирус-вакцины против болезни Марека из вируса герпеса индеек, штамм FC-126 [4]. В процессе разработки, освоения технологии и контроля препарата было получено более 20 авторских свидетельств и патентов (4 – вакцины, 3 – роллерные аппараты, 6 – способы изготовления, 6 – методы контроля вакцины и тест-системы и др.). Были разработаны и утверждены ГУВ МСХ СССР 11 комплектов НТД на изготовление, контроль, применение вакцины и изданы методические положения. Промышленная технология серийного производства жидкой и сухой вакцин была внедрена на 6 биопредприятиях страны в объеме 1,5 млрд. доз в год. Вакцина использовалась в птицеводствах, только за период исследований экономический эффект составил в хозяйствах яичного и мясного направления на 1 тыс. голов привитой птицы 360 и 280 руб. соответственно [4].

Вакцины из ВГИ, штамм FC-126 многие годы имели преобладающее значение, однако уже в конце 80-х годов, как в России, так и в других странах мира, стало очевидным снижение эффективности профилактики болезни Марека имеющимися вакцинами. Сотрудниками ВНИТИБП было предпринято тщательное изучение антигенных и иммуногенных свойств инфекционных и вакцинных штаммов вируса герпеса индеек и герпеса кур с использованием поли- и моноклональных антител, для чего впервые в стране была разработана тест-система ИФА (ТУ 9388-038-00008964-97). Из благополучного по БМ птицеводства были выделены и идентифицированы штаммы вируса герпеса кур (ВГК) "42" и "50", которые использовали в качестве компонентов новой поливалентной сухой вакцины ПОЛИМАРЕК (ВГИ, шт. FC-126 и ВГК, шт. "42" и "50"). Вакцина была внедрена в производство на ФКП "Курская биофабрика-фирма "БИОК", которая сегодня выпускает моно-, би- и поливалентные препараты [5]. Они, как плановая вакцинация, широко применяются в птицеводствах страны, обеспечивая эпизоотическое благополучие по болезни Марека.

Культуральные инактивированные антирабические вакцины. По Государственному заданию ГКНТ 11.03 "Разработать технологию изготовления, методы контроля, стандартизации и внедрить в промышленное производство и ветеринарную практику более эффективные безвредные антирабические вакцины" в 1972 г. отдел противовирусных препаратов ВНИТИБП приступил к разработке инактивированных антирабических вакцин для животных на клеточно-культуральной основе взамен мозговых препаратов, обладающих остаточной вирулентностью, нередко вызывающих неврологические осложнения и тающие угрозу распространения прионовой инфекции среди привитого поголовья сельскохозяйственных и домашних животных.

Для выполнения задания необходимо было определить актуальную клеточную культуру, адаптировать к ней производственный штамм фиксированного вируса бешенства (ВБ), разработать рецептуру высоко иммуногенной вакцины и промышленную технологию ее изготовления.

Лабораторными исследованиями была показана возможность стабильного получения вирусосодержащего материала в культуре перевиваемых клеток ВНК-21/13 для создания культуральных антирабических вакцин (КАВ) с

иммуногенной потенцией на уровне международного стандарта (1 МЕ/см³). Для исследовательских и производственных целей был создан и заложен на хранение в жидкий азот трехступенчатый банк клеток, адаптированных к росту в различных условиях. Спустя 40 лет хранения клетки не утратили ростовых свойств и с одинаковым успехом размножаются и в монослое и в суспензии. Это надежно обеспечивает бесперебойное производство стандартным клеточным сырьем.

Методом перемежающих пассажей (мозг овец – мозг мыши – культуры клеток) и целенаправленным селекционированием вируса, штамм "Овечий", был получен новый производственный штамм ВБ со стабильными культуральными и биологическими свойствами [6], который депонировали в коллекции ВГНКИ ветпрепаратов под №81, как "Щелково-51". В 2018 г. секвенированием инактивированных образцов производственного вируса подтверждена идентичность с исходным "Овечий" на 100%, что свидетельствует о высокой стабильности вируса [7].

Исследования по репродукции ВБ, штамм "Щелково-51" в культуре перевиваемых клеток ВНК-21/13 свидетельствовали о возможности получения вирусного материала с иммуногенностью на уровне международного стандарта – 1,0 МЕ/см³. Был сделан прорыв в вакцинологии – впервые в мире была доказана возможность культивирования ВБ в перевиваемой линии клеток ВНК-21/13 для промышленного изготовления высоко иммунных антирабических вакцин для животных [8]. Этот способ по сравнению с мозговыми вакцинами, был более производительным и экономичным – выход вируса из одного 5-литрового сосуда в роллерном аппарате был эквивалентен производимому из мозговых тканей 3–4 овец. Внедрение роллерной технологии в производство позволило сохранить более 50 тыс. овец в год и повысить эффективность и безопасность вакцин. Первые полевые испытания в неблагополучных по бешенству районах (привито 1866 голов КРС) показали высокую эффективность КАВ.

Таким образом, впервые в стране была разработана технология производства первой отечественной "Сухой инактивированной антирабической вакцины из вируса бешенства, штамм "Щелково-51". Новизна вакцины подтверждена 3 патентами. НТД на изготовление, технические условия (ТУ 46-21-276-76) и временное наставление по применению были утверждены ГУВ МСХ. Специалисты ведущих учреждений страны (ВНИТИБП, ВГНКИ, НИИ-ЭМ им. Г.Ф. Гамалея, ГИСК им. Л.А. Тарасевича и др.) признали КАВ перспективной антирабической вакциной и рекомендовали ее для широких полевых испытаний. Всего за годы разработки и испытаний КАВ в различных регионах страны было иммунизировано около 1 млн. КРС, более 3 тыс. овец и 54,7 тыс. собак с положительным эффектом. Это свидетельствовало о высокой профилактической эффективности КАВ для разных групп животных. Применение вакцины привело к снижению заболеваемости бешенством среди животных. Эти достижения были доложены на 21-м Всемирном ветеринарном конгрессе [9].

Производство вакцины было освоено на ФКП "Щелковский комбинат" (реализовано 5,43 млн доз) и на Грузинском биокOMBинате (2,67 млн доз).

Необходимость увеличения производства иммунопрепаратов, развитие молекулярной биологии и разработка отечественных биореакторов явились стимулом для дальнейшего совершенствования вакцин. Так, роллерная технология КАВ была переведена на реакторную, для этого провели адаптацию инфицированных ВБ клеток для роста на поверхности микроносителей (МН), оптимизировали ростовую среду и режим культивирования в лжесуспензии. Был разработан отечественный МН (ВИ-3, пат. RU № 1565026, 19.04.88). Реакторным способом были получены адьювант-вакцина "Рабавак" для крупного и мелкого рога-

того скота, которую апробировали в хозяйствах РФ с высоким экономическим эффектом (2,4 млн. руб. на 1 млн. доз), сухая "Рабиан", жидкая "Рабиов" и др. В конце 1995 г. произошел процесс полной замены небезопасных тканево-мозговых вакцин на более иммуногенные и безопасные препараты из штамма "Щелково-51".

Вакцины нового поколения производятся в настоящее время по Государственным заданиям в количествах, обеспечивающих потребность ветеринарной практики (8–10 млн доз в год) и применяются для профилактической и вынужденной иммунизации домашних и сельскохозяйственных животных против бешенства [10].

Вся история создания антирабических вакцин связана с непрерывным их совершенствованием. В связи с коммерциализацией и повышением требований к качеству биопрепаратов и технологии, постоянно требуются новые технические решения для создания более активных, экономичных и безопасных препаратов.

В 2007–2010 гг. перед институтом была поставлена задача в целях импортозамещения, разработать отечественные стабильные при хранении и высокоиммуногенные для целевых животных антирабические вакцины, которые по качественным показателям и соответствию требованиям GMP не уступали бы лучшим импортным образцам. С целью стандартизации производства отечественных препаратов и объективной оценки качества вакцинации и иммунного статуса животных во ВНИТИБП совместно с ВГНКИ были созданы и аттестованы относительно международных стандартов национальные отраслевые стандарты: референс-сыворотка и референс-вакцина [11].

Впервые в истории страны была разработана принципиально новая высоко иммуногенная этанол-вакцина "УНИ-РЭВ" (пат. RU № 2366457, 27.02.2008) с иммуногенной активностью ≥ 2 МЕ/мл и сроком годности более 2-х лет [12]. Вакцина не содержит антибиотиков и тиомерсаль, стерильность препарата обеспечивается входящим в состав этанолом ($10 \pm 1,0\%$). Изготовленные и успешно испытанные опытные серии "УНИРЭВ" в процессе длительного хранения сохраняли стерильность и иммуногенную активность, превышающую зарубежные аналоги. Кроме этого этанол-вакцина обладала и другими показателями эффективности (рис. 2).

Для использования в отдаленных регионах страны с низкотемпературным климатом в 2010 г. проводились исследования по разработке новой технологии сухой ГОА-антирабической вакцины. Исследования показали, что гидроокись алюминия, включенная в состав антирабической вакцины в комплексе с адсорбированным на нем вирусом (до сушки), способствует сохранению специфической активности препарата. При сублимационной сушке активность ГОА-вакцины снижалась только на 5%, без ГОА – около 24%. После введения препарата у животных значительно пролонгировалась циркуляция поствакцинальных антител до уровня 0,5 МЕ/см³, достаточного для защиты животных от бешенства. Вакцина предохраняла овец и коз от гибели даже при непосредственном заражении уличным ВБ в мозг в дозах, превышающих летальную. Следовательно, применение сухой ГОА-вакцины позволит с большей эффективностью защитить животных от бешенства [13].

За все время разработки и внедрения КАВ (табл. 1) и тест-систем для диагностики было получено около 20 патентов, защищено сотрудниками института 8 диссертаций (1 из них докторская), опубликована монография. Вакцины и технологии их производства были неоднократно награждены дипломами и медалями на выставках, проводимых в нашей стране. За время применения инактивированных антирабических вакцин из ВБ, штамм "Щелково-51" было показано, что по специфической активности, стабильности и безвредности они не уступают лучшим импортным аналогам.

В настоящее время совместно с ФКП "Щелковский комбинат" проводится цикл научно-исследовательских работ по дальнейшему совершенствованию основных технологических процессов производства вакцин против бешенства (RU №2522866, 06.03.2013; RU №2538617, 21.11.2014; RU№2563542, 20.09.2015; RU№2616898, 18.04.2017). Вакцины выпускаются с обязательным учетом требований GMP, все технологические этапы валидированы, на производстве действует система менеджмента качества. Это позволяет выпускать безопасную продукцию со стабильными показателями качества и конкурентоспособную на мировом рынке.

Заключение

Методология и основные этапы разработки, описанные выше, были применены в институте при создании более 70 биопрепаратов и промышленных технологий (вакцин, диагностикумов, лечебных сывороток, биологически активных веществ, пробиотиков, кормовых добавок и др.), большинство из них освоены в промышленном производстве и рекомендованы к использованию в ветеринарной практике. На основе полученного опыта была разработана базовая технологическая схема для производства биологических препаратов и гибкая технологическая линия из модульных конструкций и оборудования, позволяющая производить структурные изменения при переходе на другие технологии без значительных дополнительных затрат и времени.

Литература

1. Сельское хозяйство в РСФСР и РФ 1950-2016 гг.: животноводство (Ч. 14). riskprom.ru/publ/43-1-0-416.
2. Фисинин, В. И. Развитие птицеводства в России / В. И. Фисинин // biofile.ru/bio/18739.html.
3. Самуйленко, А.Я. Всероссийскому научно-исследовательскому и технологическому институту - 50 лет [Текст] / С.А. Гринь // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК. - М., 2019. - С.13-21.
4. Лукина, В.А. Вакцина против болезни Марек и оценка ее активности иммуноферментным анализом / В.А. Лукина // автореф. дисс...д.б.н., М., 1992. - 46 с.
5. Ярыгина, Е.И. Антигенные и иммуногенные свойства штаммов вируса Марек при создании эффективных экспериментальных и производственных вакцин / Е.И. Ярыгина // автореф. дисс...д.б.н., Щелково, 2005. - 54.
6. Пухова, Н.М. Получение производственного штамма вируса бешенства бешенства "Щелково-51" / Н.М.Пухова// Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК. - М., 2019. - С.52-58.
7. Крюкова, Е.Н. Совершенствование промышленных технологий изготовления вакцин против ящура и бешенства / Е.Н. Крюкова // дис...к.б.н., - Щелково. - 2016. - 93 с.
8. Иванов В.С. Бешенство животных: экспериментально-теоретическое обоснование разработки, производства, применения культуральных инактивированных вакцин и новые подходы к проблеме экстренной защиты ЦНС от возбудителя заболевания / В.С.Иванов //дисс...д.б.н. - Щелково. -2001. - 60.
9. Кузнецов, П.П. Антирабическая вакцина из фиксированного штамма вируса бешенства, адаптированного к перевиваемой линии клеток ВНК-2 [Текст] / П.П. Кузнецов, В.С. Иванов, С.В. Кузнецова // 21-й Всемир.вет. конгресс. - М., - 1979. - секция 7,3. - С.38. С.В.
10. Самуйленко, А.Я. Основные направления развития производства биопрепаратов для профилактики бешенства животных [Текст] / А.Я. Самуйленко, С.А. Гринь, Н.М. Пухова // Ветеринария и кормление, 2018. - №2. - С.29-32
11. Пухова, Н.М. Контроль качества антирабических вакцин [Текст] / Н.М.Пухова, Е.А., Шубина, А.Л. Елаков //Методы оценки соответствия. - 2013.- №12. -С.8-11.
12. Пухова, Н.М. Жидкая антирабическая этанол-вакцина для домашних животных из вируса бешенства, штамм "Щелково-51" /Н.М. Пухова //Труды Федерального центра охраны здоровья животных / ФГБУ "Федеральный центр охраны здоровья животных" (ФГБУ "ВНИИЗЖ"). - Т.16. - М.: ФГБНУ "Росинформагротех", 2018 - Р. 475-482
13. Пухова, Н.М. Антителоиндуцирующая активность в организме животных, иммунизированных сухой антирабической ГОА-вакциной [Текст] /Н.М. Пухова, Н.К. Еремец// Веткорм. - 2012.-№6.-С.24-26.
14. Пухова, Н.М. Использование достижений биотехнологии в разработке вакцин для профилактики и лечения животных от бешенства /Н.М. Пухова, А.Я. Самуйленко, В.И. Еремец// Актуальная биотехнология. - 2015. - Т. 14. - № 3. - С. 91- 93.

References

1. Agriculture in the RSFSR and the Russian Federation 1950-2016: livestock (Part 14). riskprom.ru/publ/43-1-0-416.
2. Fisinin V.I. Development of poultry farming in Russia. biofile.ru/bio/18739.html.
3. Samuilenko A.Ya., Grin S.A. The 50th anniversary of the All-Russian Scientific Research and Technological Institute // Scientific foundations of the production and quality assurance of biological products for the agricultural sector. - M., 2019. -- 13-21.
4. Lukina V.A. Vaccine against Marek's disease and assessment of its activity by enzyme immunoassay // author's abstract. Diss. - 46 p.
5. Yarygina E.I. Antigenic and immunogenic properties of Marek virus strains when creating effective experimental and industrial vaccines // Abstract. diss ... Dr. Sc., Schelkovo, 2005. -- 54.
6. Pukhova N.M. Obtaining the production strain of rabies virus "Schelkovo-51" // Scientific basis for the production and quality assurance of biological products for the agricultural sector. - M., 2019. - P.52-58.
7. Kryukova E.N. Improvement of industrial technologies for the manufacture of vaccines against foot and mouth disease and rabies: dis ... Ph.D. - Schelkovo. - 2016. -93 p.
8. Ivanov V.S. Animal rabies: an experimental-theoretical justification for the development, production, use of inactivated culture vaccines and new approaches to the problem of emergency protection of the central nervous system from the causative agent//Diss.- Schelkovo. -2001.- 60p.
9. Kuznetsov P.P., Ivanov V.S., Kuznetsova S.V. An anti-rabies vaccine from a fixed strain of rabies virus adapted to the transplanted cell line of BHK-21 // 21st World Congress. - M., - 1979. - section 7.3. - P. 38.
10. Pukhova N.M., Samuilenko A.Ya., Eremets V.I., Eremets N.K., Ivanov I.V., Salov D.A., Likhacheva S.V., Krasutkin S.N. The main directions of the development and implementation of rabies vaccines from Shchelkovo-51. Veterinary medicine, issue 95. The Ministry of Themed Scientific Science. - 2011. -- P.175-177.
11. Pukhova N.M., Shubina E.A., Elakov A.L. Quality control of rabies vaccines // Methods of conformity assessment. - 2013.- No. 12. -P.8-11.
12. Pukhova N.M. Liquid rabies ethanol vaccine for pets from rabies virus, strain Schelkovo-51 // Proceedings of the Federal Center for Animal Health / FSBI Federal Center for Animal Health (FSBI ARRIA). - Т.16. - М.: FSINI "Rosinformagroteh", 2018 - P. 475-482
13. Pukhova N.M., Eremets N.K. Antibody-inducing activity in the body of animals immunized with dry anti-rabies HOA vaccine // Vetkorm. - 2012. - No. 6. - P.24-26.
14. Pukhova N.M., Samuilenko A.Ya., Yeremets V.I. Using the achievements of biotechnology in the development of vaccines for the prevention and treatment of animals for rabies // Actual biotechnology. - 2015. - Т. 14. - No. 3. - P. 91-93