

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева»

На правах рукописи

Вандышев Павел Евгеньевич

**Повышение эффективности использования куриных эмбрионов яичных
кроссов при производстве противогриппозных вакцин**

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технология приготовления кормов и
производства продукции животноводства.

Научный руководитель:
доктор биологических наук, доцент
Коровушкин Алексей Александрович

г. Рязань – 2023г.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Промышленное птицеводство, особенности инкубации.....	13
1.2 Применение куриных эмбрионов в производстве противогриппозных вакцин	23
1.3 Особенности процесса производства куриных эмбрионов, используемых при производстве вакцин. Факторы, влияющие на количественные показатели	31
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	46
2.1 Материалы исследований	46
2.2 Методика и схема исследований.....	50
2.3 Методы исследований.....	52
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	59
3.1 Технология производства противогриппозных вакцин, подбор оптимальных параметров использования куриных эмбрионов	59
3.1.2 Определение параметров использования куриных эмбрионов при производстве противогриппозных вакцин.....	59
3.2 Оценка использования куриных эмбрионов разных яичных кроссов.....	68
3.2.1 Оценка сбора вирусосодержащей аллантоисной жидкости в зависимости от использования эмбрионов, полученных от кур разных кроссов	68
3.2.2 Оценка выхода гемагглютиниана в зависимости от использования эмбрионов, полученных от кур разных кроссов	74
3.2.3 Оценка технологических потерь куриных эмбрионов в зависимости от использования эмбрионов, полученных от кур разных кроссов при производстве противогриппозных вакцин.....	81
3.3 Оценка рационов питания и схем вакцинации поголовья, используемых для производства куриных эмбрионов	86
3.3.1 Оценка рационов питания, применяемых на птицеводческих предприятиях, осуществляющих производство куриных эмбрионов для использования в производстве противогриппозных вакцин.....	86

3.3.2 Оценка схем вакцинации, применяемых на птицеводческих предприятиях, осуществляемых производство куриных эмбрионов для использования в производстве противогриппозных вакцин.....	92
3.4 Экономическая оценка результатов исследований.....	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	101
ВЫВОДЫ.....	105
ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ.....	106
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	107
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	108
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	126
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	127

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

б. Марека – болезнь Марека

БелЗОСП – Белорусская зональная опытная станция по птицеводству

ВАЖ – вирусодержащая аллантоисная жидкость

ГА – гемагглютинин

ИБ – бронхит птиц

ИББ – бурсальная болезнь птицы

ИБК – инфекционный бронхит птиц

ИЛТ – инфекционный ларинготрахеит птиц

ИРТ – инфекционный ринотрахеит

КЭ – куриный эмбрион

НБ – ньюкаслская болезнь птиц

ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция

ПЦФ – птицефабрика

РМ – респираторный микоплазмоз птиц

СВК – сахарный вирусный компонент

СПФ - свободное от специфических патогенных контаминантов (куриные эмбрионы)

ССЯ – синдром снижения яйценоскости

ФГБОУ ВО РГАТУ – Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева»

ФХ – фермерское хозяйство

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Животноводство по праву является одной из важнейших отраслей сельского хозяйства. Птицеводство – одна из наиболее интенсивных и динамичных отраслей агропромышленного комплекса страны, которая дает большой спектр продукции, используемой как для питания, так и для различных отраслей промышленности [10, 42, 72]. Следует отметить, что в настоящее время производство вакцин мало осуществимо без инкубационных яиц. На основании результатов обзора научных и производственных данных зарубежных и отечественных исследователей, в том числе клинических исследований определено, что в настоящее время для многих существующих инфекционных заболеваний человека не разработаны эффективные способы лечения и профилактики [25, 34, 51, 74, 134, 140, 159, 160]. Актуальность борьбы с гриппом при помощи вакцинации не вызывает сомнений. Данный момент отражен в документах, обнародованных Всемирной ассоциацией здравоохранения, документах Минздрава России и др. [124, 133, 135, 139, 144, 149, 150, 152, 155, 157, 158].

По данным И.Б. Есмагамбетова, С.В. Алексеевой, Х.С. Саядяна и др. (2016) [29], сезонное заболевание гриппом широко распространено по всему земному шару. Так, в Российской Федерации грипп и другие ОРВИ занимает до 90 % случаев всей инфекционной патологии.

Для профилактики гриппа используются вакцины. В целях снижения смертности и заболеваемости, вызываемых вспышками сезонного гриппа, мировая фарминдустрия каждый год производит несколько сотен миллионов доз противогриппозных вакцин. Ю.Р. Романова (2012) приводит данные, что преобладающим методом получения доз противогриппозных вакцин является технология, основанная на использовании оплодотворенных яиц промышленных кроссов [78].

В соответствии с утвержденной стратегией развития иммунопрофилактики инфекционных болезней на период до 2035 г. (Распоряжение Правительства РФ от 18.09.2020 № 23900) планируется осуществить максимальное применение (не

менее 51 % населения) четырехвалентных противогриппозных вакцин, соответствующих требованиям ВОЗ. Реализации данной стратегии потребует в период с 2020 по 2035 г. увеличения производства гемагглютинина более чем в 2,5 раза до уровня 5000 г в год [76].

В настоящее время отечественные фармацевтические предприятия, изготавливающие противогриппозные препараты, осуществляют производство инактивированных вакцин, основанных на использовании оплодотворенных яиц куриных эмбрионов яичных кроссов, что позволяет обеспечить производство доступного профилактического препарата. Для производства вакцин используется биоматериал (куриный эмбрион), получаемый от кур разных генотипов. Утверждены и введены к использованию методические указания для определения показателей качества иммунобиологических препаратов, используемых для профилактики и диагностики гриппа, разработанные Государственным НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича [50]. При этом в современном птицеводстве отсутствуют рекомендации по структуре птицеводческих хозяйств, содержанию птицы, технологии ингибирования и доставки куриных эмбрионов до биофармацевтических предприятий, необходимых для культивирования вируса гриппа и выделения антигена для производства вакцин. Учитывая объем производства противогриппозных вакцин, соответствующего 51 % охвату населения РФ, в настоящее время необходимо детально рассмотреть вопрос стандартизации и повышения качества производства куриных эмбрионов, начиная от требований к конструированию современных птицеводческих хозяйств, заканчивая методическими указаниями по содержанию, кормлению и вакцинации поголовья, которое можно использовать не с позиции промышленного птицеводства, а с целью обеспечения непрерывного цикла производства субстанции для изготовления вакцин. В соответствии с этим необходимо определить оптимальные условия использования куриных эмбрионов, получаемых от разных кроссов кур-несушек, от которых получают оплодотворенное яйцо для производства противогриппозных вакцин с большей эффективностью, лучшего качества. В

условиях реализации стратегий и задач, связанных с кратным увеличением объема производства противогриппозных вакцин, повышение эффективности использования куриных эмбрионов яичных кроссов приобретает особую актуальность.

Качество и собираемый объем вирусосодержащей аллантаической жидкости является основным фактором, гарантирующим высокий выход гемагглютинина, который, в свою очередь, зависит от технологии выращивания и содержания промышленной птицы. Перспективным направлением в совершенствовании существующей технологии производства противогриппозных вакцин является стандартизация основного сырья, используемого при производстве, в том числе оплодотворенных яиц, и особенностей технологий, применяемых в птицеводстве. Помимо этологических признаков интерьерным маркером, определяющим адаптацию поголовья птиц к условиям содержания в птицеводческих хозяйствах, является динамика показателей оплодотворенности, формирования объема аллантаической жидкости, необходимой для культивирования вируса гриппа, уровня выживаемости куриных эмбрионов. Также одним из факторов, оказывающих стрессовое воздействие на птицу, может оказаться некомфортное освещение в помещении, температурный режим, а также режимы сбора и транспортировки куриных эмбрионов до биофармацевтических предприятий.

Увеличение объема производства вакцин на действующих производственных предприятиях проводится в основном за счет совершенствования производства основного биологического материала (куриный эмбрион) и совершенствования технологических приемов. Биологическая промышленность проводит большую работу в оценке факторов, влияющих на производство антигенов, и обладает достаточным накопленным опытом для формирования предложений по совершенствованию технологии выращивания и содержанию птицы яичных пород. При разработке вакцины против вируса гриппа как для человека, так и для животных, почти не учитываются генетические особенности объектов, от которых получается биоматериал, который впоследствии применяется, собственно, для производства вакцины.

Цель исследования – повышение эффективности использования куриных эмбрионов яичных кроссов кур при производстве противогриппозных вакцин.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. определить оптимальную массу куриного эмбриона для использования их в производстве противогриппозных вакцин;
2. установить возможность применения различных кроссов яичных кур для получения эмбрионов, используемых при производстве противогриппозных вакцин;
3. определить оптимальный возраст поголовья яичных кур при производстве куриных эмбрионов используемых для производства противогриппозных вакцин;
4. оценить зависимость изменения рационов питания и схем вакцинации поголовья кур, используемых для производства куриных эмбрионов при производстве противогриппозных вакцин.
5. рассчитать экономическую эффективность использования отечественных и зарубежных кроссов яичных кур для получения эмбрионов, используемых при производстве противогриппозных вакцин.

Объектом исследований является куриные эмбрионы, используемые при производстве противогриппозных вакцин.

Предмет исследований – параметры биологического материала, используемого при производстве противогриппозных вакцин и зависимость их от кроссов кур яичных пород.

Научная новизна. Впервые в РФ определена оптимальная масса эмбриона для использования при производстве противогриппозных вакцин. Выявлено, что наиболее оптимальный возраст яичных кур при производстве куриных эмбрионов является 270- 450 дней. При проведении сравнительного исследования кроссов яичных кур определено, что использование эмбрионов позволяет извлекать до 8,3 мл аллантоисной жидкости при уровне потерь не более 10% используемого биологического материала с учетом получения до 70 мкг гемагглютинина в произ-

водстве противогриппозных вакцин с использованием очистки методом тангенсальной фильтрации. Определено, что наиболее оптимальным для использования в качестве биологического материала наиболее целесообразно использовать отечественный кросс Родонит – 3.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в получении новых знаний об использовании куриных эмбрионов яичных кроссов кур и их параметров в качестве биологического материала для производства противогриппозных вакцин, а также получены результаты, которые могут быть использованы для определения основных параметров производства куриных эмбрионов, совершенствования условий содержания и кормления промышленного поголовья кур яичных кроссов.

Практическая значимость работы заключается в том, что использование результатов исследований позволяет производителям инактивированных противогриппозных вакцинкратно повысить эффективность используемой технологии производства с учетом применения очистки методом тангенсальной фильтрации. В ходе исследования определено, что использование отечественного кросса Родонит-3 позволяет достигать наиболее оптимальных результатов при использовании в производстве противогриппозных вакцин и обеспечить снижения риска зависимости от иностранных производителей.

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе в ФГБОУ ВО РГАТУ и ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Получен патент на изобретение № 2754398 «Способ получения четырехвалентной вакцины для профилактики гриппа».

Научные положения, выводы и практические предложения, сформулированные аспирантом, являются обоснованными и объективно отражают результаты выполненной научно-исследовательской работы.

Методология и методы исследования. Методологической и теоретической основой диссертации являются работы российских и зарубежных исследователей в сфере изучения вопросов, в частности рассматривающих возможность повыше-

ния эффективности производства противогриппозных вакцин с использованием куриных эмбрионов разных яичных кроссов кур.

При выполнении научно-исследовательской работы использовались зоотехнические, физиологические, биохимические, экономические методы. Исследования проводились в условиях птицефабрик «Чайка», «1-я Минская», «БелЗОСП», ФГБОУ ВО РГАТУ, биофармацевтической фабрики ООО «Форт». Объектами исследований послужили кроссы Родонит-3, Декалб Уайт, Хайсекс Браун, Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Оптимальным параметром для использования в качестве основного сырья для производства противогриппозных вакцин являются куриные эмбрионы яичных кроссов, соответствующие массе от 2 до 3 грамм.

2. Использование отечественного яичного кросса кур Родонит 3 при получении куриных эмбрионов, которые в свою очередь применяются при производстве противогриппозных вакцин, позволяет обеспечивать наибольший выход гемагглютинаина, высокий объем вирусодержащей аллантоисной жидкости и минимальные потери куриных эмбрионов в ходе технологического процесса.

3. Возраст поголовья кур яичных кроссов в 270-450 суток является наиболее оптимальным при использовании для производства куриных эмбрионов, которые применяются для производства противогриппозных вакцин.

4. Изменение рационов питания и схем вакцинации поголовья кур яичных кроссов оказывает влияние на качество куриных эмбрионов, используемых в производстве противогриппозных вакцин.

5. Использование Российского кросса Родонит-3 наиболее экономически целесообразно в качестве основы производства биологического материала

Степень достоверности результатов проведенных исследований подтверждается репрезентативностью данных исследований, а также значительным объемом фактического материала, проанализированного с использованием современных методов исследований и статистических программ. Лабораторные анали-

зы выполнялись по действующим ГОСТам и методическим указаниям на оборудовании в специализированных сертифицированных и аккредитованных лабораториях. Научные выводы базируются на полученном экспериментальном материале. Результаты, полученные в ходе выполнения работы, согласуются с результатами, опубликованными в независимых источниках по тематике исследования и прошли достаточную апробацию в печати.

Апробация результатов исследований Основные положения диссертации доложены и получили положительную оценку на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы устойчивого развития сельских территорий и кадрового обеспечения АПК» (Минск, 3-4 июня 2021); 73-й Международной научно-практической конференции «Научно-технологические приоритеты в развитии агропромышленного комплекса России» (21 апреля 2022 года, г. Рязань).

Реализация результатов исследований. Представленные результаты исследования получены в условиях птицефабрик «Чайка», «1-я Минская», «БелЗОСП», ФГБОУ ВО РГАТУ и в ГБУ «Рязанская областная ветеринарная лаборатория» на откалиброванном, сертифицированном оборудовании с использованием стандартизированных реактивов и общепринятых методик. Результаты опытов достоверны, что подтверждается необходимым количеством животных, биологического материала, их биометрической обработкой по Н.А. Плохинскому (1961), достоверность исследований определялась с использованием критерия достоверности Стьюдента.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации, заключается в подборе теоретического материала, выполнении производственных исследований, в обработке, анализе и изложении полученного экспериментального материала диссертации, в подготовке и написании научных статей по результатам исследований, в апробации результатов. Соискателем установлены факторы, определяющие качество используемых куриных эмбрионов, определены кроссы яичных пород кур, позволяющих достигать максимальных

технологических показателей, определена зависимость применения кормовых составов и схем вакцинации, применяемых при использовании куриных эмбрионов при производстве противогриппозных вакцин. Подтверждена эффективность применения кросса Родонит 3 при производстве противогриппозных вакцин «Совигрипп», «Ультрикс» и «Ультрикс Квадри».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. По материалам исследований опубликовано 5 печатных работ, три из них в изданиях, включенных в «Перечень Российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук» ВАК РФ. По результатам работы получен патент на изобретение № 2754398. В работах, опубликованных соискателем, в полной мере изложены основные положения диссертации. Доля личного участия в публикациях составляет 72,3 %.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 127 страницах и состоит из введения, материалов и методов, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований их обсуждения, заключения и их обсуждения, списка литературы. Работа содержит 25 таблиц, 6 рисунков. Библиографический список включает 162 источника, в том числе 38 – зарубежных авторов.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Промышленное птицеводство, особенности инкубации

В настоящее время продукцию птицеводства получают на птицефабриках, и в других крупных птицеводческих хозяйствах разной формы собственности. Технология производства птицеводческой продукции в крупных современных специализированных птицеводческих хозяйствах – это научно обоснованная система последовательных производственных процессов и операций, обеспечивающая ритмичное производство продукции при минимальных затратах кормов, труда, энергии и других материальных ресурсов. Различают технологии производства яиц, а также мяса птицы [8, 44, 107, 108, 109, 112].

Технологии производства яиц основаны на выращивании гибридной птицы современных высокопродуктивных кроссов при содержании птицы в капитальных безоконных птичниках с регулируемыми параметрами микроклимата, кормлении птицы в соответствии с ее потребностями в питательных веществах, комплексной механизации и автоматизации технологических процессов [3, 40].

Производство пищевых яиц включает в себя получение инкубационных яиц, их инкубацию, выращивание ремонтного молодняка с целью комплектации птицефабрик. Наиболее оптимальным для крупных птицеводческих хозяйств является организация производства по законченному циклу, т.е. в них представлены все стадии от производства инкубационных яиц до получения готовой продукции [3].

Инкубация в птицеводстве – это искусственный вывод молодняка из яиц птицы. В настоящее время инкубация яиц производится в специальных аппаратах, называемых инкубаторами, в которых выводят птицу в любое время года. Прототип современных инкубаторов создал впервые итальянский физик Джованни Порто [6, 7, 67, 99].

В инкубаторе создаются и поддерживаются условия, при которых зародыш начинает развиваться, успешно заканчивает свое развитие, и птенец вылупляется. В настоящее время инкубаторы – сложные аппараты, где осуществляется поддержка необходимой температуры и влажности воздуха, воздухообмен и автоматическое проворачивание яиц. Инкубаторы с одинаковой эффективностью работают в любое время года, причем в любой природной зоне, перерыв делается только на техническое обслуживание и дезинфекцию. Полученный таким способом молодняк по качествам не отличается от птенцов из-под наседки [6].

Инкубаторий – здание, в котором размещаются инкубаторы для выведения молодняка птицы. Размеры инкубатория зависят от типа и количества размещенных в нем инкубаторов, что определяется технологическим процессом производства. Инкубаторий включает в себя: помещение для приемки и сортировки яиц, яйцеклад, инкубационный зал, помещение для сортировки цыплят. Инкубаторий размещают в составе птицеводческих ферм, птицефабрик, племенных заводов или птицеводческих инкубационных станций [43].

Инкубаторы разделяют на три типа: секционные, кабинетные, шкафные.

Секционные инкубаторы обычно представляют собой 150-200 мелких инкубаторов, заключенных в одном корпусе. В инкубаторах этого типа процесс инкубации и вывода цыплят совмещен. Такие инкубаторы достаточно громоздки, мало автоматизированы, требуют для производства больших площадей.

Кабинетные инкубаторы представляют собой коробку в виде комнаты и коридора посередине, по обеим сторонам которого размещены колонки с лотками яиц. Обслуживание в данном типе внутреннее. В инкубационных камерах лотки с яйцами устанавливаются в барабанах, смонтированных на общем валу и обеспечивающих поворот яиц.

Шкафные инкубаторы. Состоят из объединенных в одном корпусе инкубационных камер и выводной камеры. Лотки с яйцами устанавливают в тележках-этажерках, которые размещаются в камерах. Тележки обеспечивают поворот яиц, в выводной этажерке этого не требуется. Каждый шкаф оборудован автономной

системой поддержки необходимого режима. Обслуживание этого типа инкубаторов – наружное [7].

Для инкубации следует отбирать яйца, полученные только от клинически здоровой птицы племенного стада, не подверженного инфекционным заболеваниям. Для инкубации пригодны полноценные инкубационные яйца, оплодотворенные с высокой выводимостью. Яйцо необходимо закладывать в инкубатор не позже 3-5 дней после того, как оно снесено. Это объясняется тем, что при хранении яиц в них происходит ряд изменений: разжижение белка, переход воды из белка в желток, а также в меньшей степени желтка и др., что снижает выводимость [47].

Высокое стабильное качество инкубационных яиц во многом обеспечивается правильной организацией их сбора. В теплый сезон яйца собирают 3 раз в день и не реже чем через 3 часа после снесения дезинфицируют в противном случае, качество их ухудшается. Яйца очень мелкие, с дефектом скорлупы, а также снесенные на полу, собираются в отдельную тару и отправляются на склад [6, 8].

Каждая партия яиц, отгружаемая в цех инкубации, должна сопровождаться документом, в котором указано их количество отдельно по породам, линиям, возрасту птицы. При реализации яиц за пределы района хозяйство должно иметь ветеринарное свидетельство и спецификацию, а на яйца племенной птицы – дополнительное племенное свидетельство с указанием количества и качества продукции. При необходимости яйца маркируют простым карандашом, маркировка краской не допускается. Яйца упаковываются в картонные коробки вместимостью 180 или 360 шт. (ГОСТ 13513-86). Лучшим видом транспорта для доставки инкубационных яиц считаются специальные автомобили, в которых обеспечен приток воздуха и соблюдаются климатические условия. При перевозке следует избегать резкого торможения, тряски и толчков. Наиболее оптимальные условия для груза – температура не ниже 8 °С и не выше 23 °С при влажности воздуха от 40 % до 80 % [8].

В холодное время года сильно охлажденные яйца нельзя вносить в теплое помещение во избежание конденсации влаги, распаковывать их стоит в прохладном помещении. Отбраковывают оплодотворенные яйца для инкубации посредством просвечивания на овоскопе. Яйца должны быть правильной формы и иметь чистую гладкую скорлупу. Воздушная камера свежего яйца имеет диаметр 1,5 см, располагается в тупом конце яйца, допустимо небольшое ее смещение. Желток располагается по центру яйца, но допустимо смещение к воздушной камере. При вращении яйца желток почти не движется. Границы нечеткие. Если желток имеет правильное положение и малую подвижность – это признак хорошо выраженной слоистости белка и упругости градинок. В содержимом яйца, вылитом на гладкую поверхность, плотный слой белка хорошо выражен и сохраняет форму яйца. Белок имеет зеленоватый оттенок [12].

При оптимальных условиях кормления и содержания кур-несушек, рациональной упаковке и перевозке количество отбракованных до инкубации яиц, как правило, не превышает 10 % [40,41].

Для правильной оценки выбирают яйца из однородной группы несушек. Для оценки параметров целого яйца (масса, плотность, форма, упругая деформация) подвергают анализу не менее 50 штук, а требующих вскрытия (содержание витаминов, единицы Хау, отношение массы белка к массе желтка, толщина скорлупы) – не менее 30 штук [111].

Для обеспечения однородности суточного молодняка по массе и качеству и сокращения срока инкубации – яйца калибруют по массе, разделяя на две-три категории. Если партия яйца получена от молодой птицы, то его калибруют на группы с мелкой и средней массой, если от переерой – средней и крупной массой.

Одновременно при оценке и сортировке яйца укладывают в лотки в шахматном порядке. Чтобы они не раскатывались при неполной загрузке, ставят ограничитель [3].

Не рекомендовано длительное хранение яиц перед инкубацией, оно негативно сказывается на их выводимости и качестве молодняка. Инкубации подле-

жат только свежие яйца. Работа инкубаторов контролируется ежечасно, в журнале фиксируется температура по приборам учета (сухому и увлажненному термометрам), положение заслонок и влажность [26].

Если условия производства все же вынуждают хранить яйца до инкубации, следует учитывать следующие требования: вентиляция гарантирует чистоту воздуха и отсутствие посторонних запахов; положение для хранения куриных яиц – вертикальное; срок хранения куриных яиц – не более 6 дней [6].

При необходимости увеличения сроков хранения яиц с целью вывода крупных одновозрастных партий молодняка или при сборе от небольшой группы племенной птицы применяют специально разработанные приемы сохранения инкубационных качеств яиц [8].

Способность к длительному хранению повышается, если яйца сразу же после снесения дезинфицируются и охлаждаются. Охладить яйца следует до 8-12 °С в холодильной камере птичника или яйцесклада, после чего их транспортируют в склад инкубатория. Температура ниже 8 °С не допускается, так как в яйце начинаются необратимые процессы [6, 8].

За время инкубации проводится биологический контроль, сущность которого заключается в том, что во время инкубации учитываются все признаки, характеризующие развитие эмбриона. Биологический контроль также включает в себя оценку условий инкубации, а также суточного молодняка [56].

Биологический контроль инкубации предполагает следующие группы мероприятий: внешний осмотр, взвешивание, просвечивание, лабораторный анализ яиц до и во время инкубации; экстерьерная и лабораторная оценка суточного молодняка; паталого-анатомическое вскрытие отходов; количественный учет результатов инкубации.

Большую часть данных биологического контроля получают посредством миражирования, а также в результате вскрытия яиц и мертвых эмбрионов [68].

Перегрев в начале инкубации вызывает разные уродства: на первых стадиях – уродство тела, на втором – уродство головы, на третьей – эктопию (не закрывшуюся брюшную полость). Недостаточный обогрев эмбрионов вызывает анемию.

При высокой влажности у задохликов зоб, желудок и кишечник переполнены околоплодными жидкостями, которые при проклеве скорлупы могут заклеить отверстие в ней и клюв эмбриона.

При низкой влажности вероятно, что эмбрион и его оболочки пересохнут и прилипнут к скорлупе; при выводе подскорлупные оболочки сухи, плохо разрываются, пух эмбриона высыхает еще до освобождения его от скорлупы [48, 95].

Обеспечивать комплексную оценку качества яиц, условий инкубации и состояния выведенного молодняка призван биологический контроль, осуществляемый в целях повышения результативности всей технологии [59,60].

Биологический контроль выполняет заведующий инкубаторием при участии ветеринарного и зоотехнического персонала, либо ветврач инкубатория. Проверку осуществляют для выборочных конкретных партий яиц от известных поставщиков. Отбирают до трех контрольных лотков из каждой принятой партии яиц, помещают их в верхнюю, среднюю и нижнюю зоны инкубатора. Затем результаты наблюдений сравнивают [53,54,60].

Биологический контроль выполняется 2-3 раза в месяц по следующей схеме:

– До начала инкубации. Отобрать яйца, непригодные для инкубации; распределить по видам брака; выборочно оценить всю партию в лаборатории по морфологическим и физико-химическим признакам.

– В процессе инкубации. Оценить развитие эмбрионов, при необходимости выполнить овоскопирование и вскрытие яиц. Постоянно контролировать массу яиц, вести учет сроков инкубации.

– После завершения инкубации. Выполнить анализ результатов, установить возраст умерших эмбрионов и причины, оценить суточный молодняк по экстерьерно-интерьерным и биохимическим показателям. Контролировать сохранность молодняка до двухнедельного возраста [68].

Для оценки процесса инкубации важно знать также показатели оплодотворенности и выводимости яиц. Оплодотворенность – это количество оплодотворенных яиц, выраженное в процентах от общего количества яиц, помещенных в инкубатор. Выводимость – количество здорового молодняка в процентах от количества оплодотворенных яиц.

Если оплодотворенность яиц менее 90 %, то необходимо выборочно произвести их вскрытие и установить, было ли яйцо действительно неоплодотворенным или зародыш погиб в первые 48 часов инкубации. В неоплодотворенных яйцах при вскрытии на желтке видна белая точка диаметром 1-2 мм. Если яйцо оплодотворенное, но зародыш погиб до инкубации, диаметр бластодиска равен 3-4 мм, и на нем могут быть видны чередующиеся светлые и темные кольца желтка. В случае, когда зародыш погиб в первые два часа инкубации, будет видна бластодерма овальной формы, в центре которой можно различить белое поле [111].

Нарушение режима инкубации приводит к разным отклонениям в развитии и гибели эмбрионов, особенно в конце срока инкубации [23, 68]. Так, при длительном перегреве наблюдается ускоренный рост эмбриональных оболочек, ранний наклев и гибель эмбрионов с характерными диагностическими признаками: не втянутый желток, уменьшенное сердце, гиперемия внутренних органов, иногда с кровоизлияниями [48].

Недогрев замедляет рост и развитие эмбрионов; наклев и вывод запаздывают и растянуты. В яйцах остаются живые эмбрионы с признаками анемии, отеками шеи, пупочного кольца и аллантоиса.

Нарушение эмбрионального развития птицы устанавливают, если они носят массовый характер, то есть отмечены у значительной части погибших эмбрионов. Для диагностики инфекционных заболеваний патологоанатомического вскрытия яиц и эмбрионов недостаточно. Следует проводить специальные анализы в ветеринарной лаборатории [6, 68, 101].

В дополнение к биологическому контролю и инкубации следует контролировать состояние молодняка в первые две недели выращивания: учитывать жиз-

ненную массу и сохранность [5, 62]. Ежедневный отход молодняка пересчитывают в процентах от принятого на выращивание поголовья. Пик падежа обычно приходится на 5-6 день. Если он сместился в ту или иную сторону, следует проверить условия выращивания молодняка. Возможными причинами гибели в этом случае могут быть: передержка в инкубаторах, длительная транспортировка, отсутствие корма и воды, недоброкачественный корм, повышенная или пониженная температура в помещении, инфекционные заболевания, травмы. Если наблюдается повышенный отход молодняка в первые дни жизни, производят патологоанатомический анализ и устанавливают причины.

При содержании кур обычно используют два способа: напольный и клеточный. Способ содержания выбирается в зависимости от многих факторов (экономических, климатических, специализации производства и др.) [87].

При содержании промышленных и родительских стад часто практикуют: напольное содержание на глубокой подстилке, на глубокой подстилке в комплексе с коробами для помета, напольное содержание на сетчатых полах, напольное содержание на планчатых полах. При клеточном содержании птицу содержат в специальных клетках, называемых клеточными батареями (вертикальные, батареи ступенчатого типа, батареи полуступенчатого типа, горизонтальные широкогабаритные батареи).

Производство молодняка методом инкубации – один из инструментов племенной работы. Это направление в птицеводстве возглавляют так называемые селекционные центры при НИИ и зональных опытных станциях по птицеводству. Их задачами являются следующие направления деятельности:

- создавать новые и улучшать существующие линии и кроссы птицы;
- разрабатывать новые и улучшать уже существующие методы и приемы селекции;
- сохранять генофонд линий и пород птицы для его использования в целях создания новых высокопродуктивных линий и кроссов;

- осуществлять координацию и руководство (научное и методическое) исследованиями по селекции и генетике птицы;
- разрабатывать технологические приемы селекции, позволяющие выявить генетический потенциал птицы по основным хозяйственно-полезным признакам.

В птицеводстве сегодня существует система племенных хозяйств, поскольку при скрещивании узкоспециализированных линий гетерозис проявляется у гибридов первого поколения [11, 41, 64]. Таким образом, суть деятельности племенных заводов – размножение и сохранение наиболее ценного генофонда птицы. Отсюда вытекают основные задачи племенных заводов:

- осуществлять поддержку и улучшение племенных и продуктивных качеств существующих пород, линий кроссов птицы;
- размножать исходные линии кроссов птиц и обеспечивать качественным племенным материалом репродукторные хозяйства;
- осуществлять методическое руководство деятельностью племенных хозяйств, закрепленных конкретно за племенным заводом.

Племенные репродукторы 1-го порядка ведут работу с прародительскими стадами кроссов, исходные линии для которых поставляются репродукторам непосредственно с племенных заводов. Иногда племенные репродукторы 1-го порядка входят напрямую в состав племенных заводов. Их главными задачами в отрасли являются: производство племенной продукции – как в виде суточного молодняка, так и в виде инкубационного яйца в целях получения родительских форм гибридов; обеспечение своей продукцией репродукторов 2-го порядка.

Племенные репродукторы 2-го порядка работают с родительскими стадами кроссов, поставляя яйца инкубаторно-птицеводческим станциям или цехам инкубации птицеводческих хозяйств.

Росптицесоюзом совместно с учеными ВНИТИП разработана и утверждена концепция развития птицеводства России, которая позволяет обеспечить продовольственную безопасность Российской Федерации и избежать зависимости от импорта птицеводческой продукции. Данная концепция включает в себя основ-

ные направления племенной работы, укрепления кормовой базы и повышения полноценности кормления птицы; приоритетные направления поддержания необходимого технического уровня производства в промышленном птицеводстве и освоения современных технологий, мероприятий по повышению эффективности переработки птицеводческой продукции, комплекс мер по обеспечению страны высокопрофессиональными кадрами [104, 128].

Наличие существенной инкубационной базы при крупных птицефабриках и репродукторов второго рода определило тесную связь, направленную на обеспечение инкубационным яйцом биофармацевтических фабрик для производства иммунобиологических препаратов.

В настоящее время в качестве основного сырья в виде инкубационного яйца (до 10 дней инкубации) – куриный эмбрион используются кроссы промышленных яичных кур. Учитывая объемы потребления, наиболее оптимальной формой взаимодействия является организация производства куриных эмбрионов на мощностях репродукторов второго порядка ввиду возможности производства инкубационного яйца высокого качества в необходимом количестве и организации системных поставок на предприятия.

Соблюдение стандартов содержания птицы и обеспечения системного биологического контроля позволяет достигать высокого качества продукции птицеводческого хозяйства.

1.2 Применение куриных эмбрионов в производстве противогриппозных вакцин

Куриный эмбрион – инкубированное оплодотворенное яйцо, поставляемое на биофармацевтическое предприятие со сроком инкубации 8-10 дней от птицеводческих хозяйств, осуществляющих производство инкубационных яиц в соответствии с требованиями по благополучию, подтвержденными ветеринарным свидетельством от родительских форм яичных кроссов со следующими характеристиками: масса инкубационного яйца 48-56 г; скорлупа чистая, без трещин; масса эмбриона от 1,5-6 г; аллантоис покрывает более 1/3 поверхности сосудистого поля, желточного мешка, голова имеет характерную для птиц форму, клюв удлинен, заметны ноздри и четко выражен яичный зуб на кончике клюва. Отчетливо выражен локтевой изгиб крыла. Зачатки перьев слабо выступают над поверхностью кожи, по средней области туловища, особенно в области лопатки, шеи, на коже бедра. На брюшной стороне сильно выделяется печень. Аллантоис разросся, покрывая весь амниотический пузырь и большую часть сосудистого поля желточного мешка. В полости аллантоиса накапливается жидкость [4, 68, 90, 101].

В настоящее время наиболее доступной технологией производства иммунобиологических препаратов – вакцин против гриппа, применяемых для профилактики населения, является технология производства на куриных эмбрионах [17, 18, 46, 58, 96, 113, 117, 122]. За период с 1930 по 2022 год промышленность обеспечила динамичный рост производства противогриппозных вакцин с 2 млн доз в год до 88 млн доз ежегодно, что позволило обеспечить уровень вакцинации населения Российской Федерации свыше 51 % и достигнуть популяционного иммунитета [15]. Куриный эмбрион является удобным инструментом для культивирования вируса гриппа и, учитывая доступность данного вида сырья, позволяет обеспечивать производство иммунобиологических препаратов необходимым количеством сырья [17, 18, 63, 71, 96, 101]. Технология производства вакцин с применением куриных эмбрионов предполагает использование возможностей промышленного птицеводства в целях производства иммунобиологических препаратов. В настоя-

щее время на территории Российской Федерации в качестве основного сырья для производства противогриппозных вакцин используют инкубационные яйца разных возрастов – от 2 до 9 дней. Производят данное сырье репродукторы, выращивающие племенное поголовье в соответствии с требованиями биологической безопасности, гарантирующими безопасность сельхозпродукции [6, 31, 43, 67, 83].

Противогриппозные вакцины производят с использованием куриных эмбрионов родительских форм, которые поставляются хозяйствами, признанными благополучными по возбудителям, патогенным для человека. Качество всех партий эмбрионов, отгружаемых поставщиками, должно подтверждаться ветеринарными свидетельствами [56, 113, 122].

По состоянию на 2021 год в Российской Федерации отсутствуют специализированные хозяйства, осуществляющие производство куриных эмбрионов исключительно для производства биопрепаратов. Организация современных репродуктивных центров предполагает совмещение производства племенного материала, поставляемого для птицеводческих хозяйств, и производства куриных эмбрионов, поставляемых для изготовления вакцин. Отличием организации является выделение отдельных участков сбора и хранения, овоскопирования, инкубации, повторного овоскопирования и подготовки к транспортировке готовой продукции, при этом технология содержания чистых линий и родительского стада является идентичной.

В российском яичном птицеводстве сегодня основными конкурирующими компаниями являются «Ломан» и «Хендрикс Дженетикс» и лишь незначительная доля принадлежит отечественным производителям, таким как «Племенной завод «Свердловский». Данный факт обусловлен высоким уровнем затрат, связанных с генетическими и селекционными исследованиями. Отсутствие финансирования минимизировало работу по развитию современных пород и кроссов, адаптивных к российским условиям [11, 28, 33, 41, 61, 64, 81]. Современные тенденции в птицеводстве ориентированы на обеспечение закупки родительских форм и гибридов в целях повышения экономической эффективности предприятий птицеводства. Этот факт в будущем может послужить разделению на следующие направления

работы: производство родительских форм, производство гибридов и, как следствие, выделение отдельных птицеводческих компаний, ориентированных на производство биологического материала для производства вакцин.

Основными кроссами для использования в производстве противогриппозных вакцин являются:

Кросс Родонит-3

Кросс выведен в России (Приложение А, рисунок 4).

Родонит-3 характеризуется продолжительной яйцекладкой, имеет высокую конверсию корма. Воспроизводительные качества отличные: вывод молодняка материнской родительской формы – до 80 %, финального гибрида – до 87 %. Адаптирован к условиям сурового климата РФ, отличается показателями высокой жизнеспособности молодняка и взрослой птицы: до 17 недель – 99 %, 17-80 недель – 97 %. Преимуществом кросса называется высокая степень яйценоскости даже при низких температурах.

Масса самцов – до 3 кг, самок – до 2 кг.

Куры откладывают первые яйца уже в возрасте 4 месяца. Через 80 недель после старта яйценоскости продуктивность в разы уменьшается.

Яйценоскость на одну несушку родительского стада – 301 шт./год.

Масса яйца около 60 грамм.

Окраска скорлупы коричневая.

Кросс Хайсекс Браун

Кросс выведен в Нидерландах (Приложение, рисунок 5).

Куры Хайсекс Браун хорошо переносят холода, отличаются высокими показателями яйценоскости, на которую не влияет сезонность.

Достоинства кросса:

- высокая жизнеспособность молодняка – до 95 %;
- раннее созревание;
- хороший иммунитет, птица почти не подвержена болезням и паразитам;
- не требователен к условиям содержания.

К недостаткам можно отнести:

- инстинкт материнства почти отсутствует;
- для поддержания высокой яичной продуктивности требуются качественные корма;

- качество мяса – низкое.

Масса самцов до 2,5 кг (рекордсмены до 3 кг), самок – до 2 кг.

Куры откладывают первые яйца уже в возрасте 4 месяца. Пик продуктивности кур-несушек сохраняется почти до 2-летнего возраста.

Несушка способна снести до 300-315 яиц/год.

Масса яйца около 64 г.

Окраска скорлупы коричневая.

Кросс Декалб Уайт

Кросс выведен в США (Приложение А, рисунок 5).

Достоинства кросса:

- выживаемость новорожденных цыплят и взрослой птицы – до 98 %;
- скороспелость птицы;
- высокая продуктивность несушек в первые годы жизни;
- требуется мало корма (чуть больше 100 г в день); с экономической точки зрения затраты на содержание окупаются высокой продуктивностью;
- яйцо обладает высокими вкусовыми и питательными качествами. Белок высокой плотности, масса яйца более 60 г;
- яйца отличаются крепкой скорлупой средней толщины, подходят для перевозки на дальние расстояния.

Недостатки:

- невысокая масса тела взрослых птиц;
- снижение продуктивности в стрессовых ситуациях.

Масса самцов 1,8-2 кг, самок – 1,5-1,7 кг.

Куры откладывают первые яйца с 5-5,5-месячного возраста, активно несутся почти 2 года. Наибольшее количество яиц куры несут в возрасте 1 года, а к двум годам производительность начинает падать.

Яйценоскость на среднюю несушку – до 330 яиц в год.

Масса яйца около 63,1 г.

Цвет скорлупы белый либо коричневый с красным оттенком.

Кросс Беларусь коричневый

Кросс выведен в Республике Беларусь (Приложение, рисунок 6).

Птица отличается высокой жизнеспособностью молодняка – 97 %, высоким убойным выходом – 60 %, хорошо приспосабливается к местным кормам, не требовательна к условиям содержания. Отличается высокой жизнеспособностью и стрессоустойчивостью, так что спокойно переносит линьку. Допускается ее использование до 8 месяцев во втором продуктивном цикле.

Масса самцов – 2,7 кг, взрослых кур – 1,7-1,9 кг.

Куры начинают откладывать яйца с 5-месячного возраста, продуктивно несутся почти 17 месяцев. Наибольшее количество яиц – в возрасте 6-11 месяцев, затем производительность снижается.

Яйценоскость 310-320 яиц/год.

Масса яйца 62-63 г.

Скорлупа коричневая.

Кросс Беларусь аутосексный

Кросс выведен в Республике Беларусь (Приложение А, рисунок 6).

Состав яиц кроссов отечественной селекции и импортной морфологически различаются. Гибридные несушки этого кросса отличаются более высоким (на 2,0-2,5 %) удельным весом желтка яиц. Соотношение белок/желток у них составляет 2,1-2,15, у импортных кроссов – 2,30-2,35. Как известно, у желтка более высокая питательная ценность, чем у белка: доля сухих веществ в желтке 53-54 %, в белке – 11-12 %.

Масса взрослых кур 1,7-1,9 кг.

Куры начинают нестись с 5-6-месячного возраста, продуктивно несутся 12 месяцев. Наибольшее количество яиц – в возрасте 8-12 месяцев, затем производительность падает.

Яйценоскость в год составляет 310-315 яиц массой 62-63 г каждое.

Белая скорлупа.

Существующие производственные мощности противогриппозных вакцин, в объеме более 80 млн доз, требуют выделения отдельных небольших племенных хозяйств с содержанием родительского поголовья в объеме кратности 40 тыс. кур-несушек на один птичник для обеспечения одной поставки в неделю в объеме не менее 150 тысяч куриных эмбрионов (сбор партии не более 5 дней), при этом наиболее целесообразным является ограничение объема поголовья птицы на одном птицеводческом хозяйстве до 120 тыс. голов [83, 97].

Выделение отдельных птицеводческих предприятий, осуществляющих производство только биологического материала, может привести к резкому удорожанию продукции, но, несмотря на это, обеспечить лучшие потребительские свойства посредством поточности технологии, более стандартизированной технологии питания, вакцинации, контроля, а также проведения работ по совершенствованию качества готовой продукции и, как следствие, большой продуктивности поставляемого материала. Впоследствии возможно формирование отдельных центров, размещенных в разных областях, при достаточной близости к производителям вакцин, и выделение отдельных селекционных центров, обеспечивающих независимость РФ в области сохранения генофонда данных пород и кроссов [33, 107].

При стандартизации методов производства можно рассматривать организацию не существующей сегодня в Российской Федерации технологии СПФ яиц (производство инкубационного яйца от не вакцинированных кур-несушек). Данный шаг является необходимым для осуществления интенсивного экспорта вакцин на внешние рынки в соответствии с международными правилами производства.

В настоящее время на территории Союзного Государства размещается не более пяти репродукторов, закрывающих потребности отечественных производителей; общий объем производства оценивается примерно в 130 млн единиц (куриный эмбрион) в период с февраля по октябрь. Наиболее крупными репродукторами, производящими куриные эмбрионы, являются: 1-я Минская птицефабрика, ФХ «Чайка», Увимский ПЗ, ППЗ «Свердловский», СХПК «Племптица-Можайское».

Куриные эмбрионы во время всего периода инкубации значительно различаются друг от друга в развитии. Один из способов оценивать состояние куриных зародышей белоскорлупных яиц в первые сутки инкубации предложил проф. М.В. Орлов: производится оценка времени появления бластодиска путем овоскопирования в первые часы после начала инкубации. Автор утверждает, что те зародыши, в которых бластодиск стал виден раньше, далее развивались с большей интенсивностью. Однако этот способ не распространился широко по причине некоторых недостатков: 1) в первые часы инкубации требуется частое изъятие яиц из инкубатора, 2) не учитывается тот факт, что деление зародышевых листков начинается сразу после оплодотворения, то есть еще в яйцеводе курицы [56, 57, 68, 113].

Являясь основным сырьем для производства вакцин, куриные эмбрионы должны соответствовать следующим требованиям: их поставщиками должны быть хозяйства, благополучные по инфекционным болезням; скорлупа непигментированная, чистая; возраст эмбриона соответствует избранному способу заражения. Инкубация яиц проводится согласно принятым рекомендациям; прижизненную оценку состояния эмбрионов производят в контрольные дни путем просвечивания на овоскопе для получения максимального количества жизнеспособных эмбрионов в целях выделения экстраэмбриональной (аллантаической и амниотической) жидкости для производства вакцин [1, 6, 7, 12, 90, 102, 113, 119, 161].

Технология производства биоматериала включает следующие этапы [: производство молодняка до возраста 6 месяцев или 180 дней; формирование поголовья для производства инкубационного яйца и использование данного поголовья до возраста 420 дней; обеспечение достаточного рациона питания поголовья для обеспечения высокой продуктивности и стабильного эмбрионального развития; обеспечение технологии сбора, хранения, подготовки и транспортировки эмбрионов до места основного производства [6, 7, 68].

В России по ряду заболеваний отмечается нестабильность эпизоотической обстановки в птицеводстве. Так, в последние годы называется показатель сохранности взрослой птицы – на уровне 95,2 %, молодняка – 93 %. Причинами падежа

являются не только множество выявленных нарушений технологии выращивания и содержания, но и ввоз в Россию зарубежной племенной птицеводческой продукции. Несомненно, вакцинация птицы от инфекций – общеизвестный и распространенный способ профилактики, однако способы ее могут различаться в зависимости от условий деятельности каждого птицеводческого хозяйства, чем сильно влияют на качество биоматериала и, соответственно, на способность обеспечивать высокие результаты сбора аллантоисной жидкости и культивирования вирусной массы [31, 54, 59, 68, 105, 114, 118].

Применение куриных эмбрионов в процессе производства вакцин намного расширило спектр тех вирусов, которые могут культивироваться в условиях лабораторий. Это объясняется тем, что у эмбрионов отмечено немало преимуществ перед лабораторными животными: яичная скорлупа и подскорлупная оболочка являются надежной защитой от внешнего бактериального заражения; иммунная система эмбрионов недостаточно развита, что стабильно обеспечивает высокую чувствительность к вирусам; куриные эмбрионы широко доступны на отечественном рынке, они не требуют ухода и кормления.

Расширение мер иммунопрофилактики в области применения противогриппозных вакцин при достижении вакцинации более 51 % населения в мире приведет к ограничению возможности производства противогриппозных вакцин с применением эмбриональной технологии и потребует применения новых технологических платформ, таких как технология вирусоподобных частиц, технология на основе аденовирусных векторов, технология мРНК-вакцин [27, 77, 79, 92, 116, 129, 136]. Тем не менее, технология производства вакцин с использованием эмбрионов является достаточно экономичной и легко масштабируемой, что отражает ее актуальность в период до 2040 года.

1.3 Особенности процесса производства куриных эмбрионов, используемых при производстве вакцин. Факторы, влияющие на количественные показатели

Один из важных факторов в процессе формирования основного поголовья в целях производства куриных эмбрионов – «определение кроссов промышленных птиц, обеспечивающих высокую яйценоскость и способность достигать высоких количественных характеристик вирусной аллантаической жидкости, получаемой в процессе культивирования вируса гриппа, и очистки на последующих этапах производства противогриппозных вакцин» [2, 36, 58].

Отбор и подбор птиц – очень важные этапы в племенной работе. Эти два процесса взаимосвязаны, задачей их является улучшение существующих и создание новых пород посредством усиления и закрепления в последующих поколениях желаемых исследователем изменений, которые появились в ходе индивидуального развития. Несомненно, подобное можно обеспечить только при одновременном создании на птицефермах таких условий кормления и содержания птицы, которые способствуют формированию желательных качеств. Отбор птицы проходит по таким важным параметрам, как экстерьер и конституция, происхождение, индивидуальная продуктивность, качество потомства. Для успеха творческого отбора также применяют расширенное воспроизводство птицы от лучших производителей племенных групп [11, 24, 38, 41, 57, 64, 81, 86].

В основу подбора заложено изучение самцов и самок в ходе их развития и роста. Целью подбора является направленно подобрать и развить у потомства такие желательные качества, которые уже присутствуют у родителей, и развить новые. Одно из обязательных условий при подборе – учитывать способность к сочетанию отдельных пар и линий. В птицеводческой отрасли для расширенного воспроизводства используют лишь лучшие выявленные сочетания. Самцы и самки всех сочетающихся линий являются по сути исходными формами для перспективного отбора и подбора в птицеводстве.

Подбор по возрасту ограничен не долгосрочным использованием птицы. Большую часть птичьего стада, как правило, на племенных фермах заменяют каждый год, оставляют лишь самых ценных самцов и самок. Несмотря на практикуемую в хозяйствах ускоренную оценку племенных качеств, которая допускает спаривать кур с петухами в раннем возрасте, опыт и практика подтверждают, что лучшее потомство дают те птицы, которые достигли годовалого возраста. Племенную птицу, отличающуюся повышенной ценностью, используют только первые 2-3 года и лишь гусей – до 4-5-летнего возраста [67, 69, 97].

Те племенные хозяйства, которые характеризуются высокой продуктивностью, как правило, осуществляют однородный (гомогенный) подбор. Такой подбор обеспечивает закрепление и развитие у потомства тех ценных продуктивных качеств, которые имелись у родительских форм. Для поддержания высокой жизнеспособности потомства практикуют разнородный (гетерогенный) подбор, что может предполагать участие в спаривании птиц той же породы, но несколько различающихся по генотипу, например, из другого хозяйства [3, 11, 28, 53, 83, 100].

Используются система оценки и отбора птицы по экстерьеру. В ее основе – изучение взаимосвязи экстерьерных признаков и внутренних качеств, обеспечивающих продуктивность. Профессор С.И. Боголюбский с сотрудниками изучал взаимосвязь важнейших экстерьерных признаков с яйценоскостью кур. В этом исследовании все экстерьерные признаки кур в 7-30-месячном возрасте разделили на три группы:

- 1) признаки, которые характеризуются относительно быстрым нарастанием возрастных и сезонных изменений, наиболее тесно связанных с активностью половых желез. Сочетание этих признаков, как правило, дает основание сделать вывод о состоянии яйценоскости в период бонитировки;

- 2) признаки, которые характеризуются относительно медленными возрастными и сезонными изменениями. Сочетание этих признаков дает основание сделать вывод об интенсивности и продолжительности яйценоскости до бонитировки;

3) относительно стабильные признаки, которые характеризуют размеры, форму и окраску отдельных частей тела и всей птицы.

В совокупности эти признаки позволяют получить представление о конституции птицы, ее здоровье, породных и линейных качествах. Использование этой системы оценки позволяет выявить в стаде более и менее продуктивных кур и в производственных целях разбить их на группы, отличающиеся по качеству [70] .

В хозяйствах, занятых промышленным птицеводством, отбирают кур в том числе по экстерьеру, делают это периодически с целью удалить непродуктивных особей, что соответствует технологии производства инкубационных и пищевых яиц.

На птицефермах, практикующих содержание птицы на полу, процедуру основной оценки и отбора проводят в процессе комплектования стада, но ведут отбор в течение всего календарного года, удаляя не несущуюся птицу, квохчущих особей. В подсобных хозяйствах отбирать птицу по внешним признакам особенно важно, тем более осенью, когда настает пора выбраковки непродуктивной птицы и замены ее молодой. [33, 35, 37, 38, 65, 99].

Вне сомнения, отбирать птицу по внешнему виду и персональным продуктивным качествам – очень важно на первых этапах селекционной работы. Однако по мере роста продуктивности стада возможности этих методов существенно сокращаются.

Племенной отбор и подбор обеспечивают максимально достоверное воспроизводство в потомстве лучших продуктивных качеств родителей и являются признанной основой разведения птицы по линиям. С этим определенным образом связаны как направление, так и методы подбора, и признаки, по которым его ведут. Подбор и отбор как процедуры не исключают друг друга, а дополняют.

Подбор по племенным качествам при разведении по линиям осуществляют, принимая во внимание происхождение, продуктивность родителей и более отдаленных предков, главным образом второго и третьего поколений, продуктивность потомства, а также сестер молодых самцов. Когда подбирают птицу, всегда стремятся выполнить то условие, чтобы она была продуктивнее всей популяции или

опытного стада. Когда осуществляют селекцию на гетерозис и выводят гибридную птицу посредством периодической реципрокной селекции или других методов, то используют разнородный подбор разных линий одной, а чаще разных пород одного и того же направления продуктивности. В отличие от тех случаев, когда проводится разведение по линиям, при гибридизации результаты подбора подвергаются оценке по качеству не чистопородного, а гибридного потомства. В том и другом случае происходит сравнение по сходным признакам, которые соотносятся с признаками птиц, выбранных для селекции [11, 41, 64, 69, 81, 104].

Селекция, задачей которой является повысить качество куриных яиц, прежде всего видит целью увеличить их массу. Отбор по этому селекционному направлению ведется в соответствии с требованиями стандарта по массе каждого яйца, снесенного в последней декаде 8-го и 12-го месяца жизни кур. Чтобы яйца получать однородные, следует осуществлять регулярный контроль и оценивать их по размерам вдоль большой и малой осей. Качество белка и желтка определяется овоскопированием, в ходе которого выявляют также наличие мясных и кровяных включений. Куры, чью яйца характеризуются такими включениями, подлежат выбраковке [3, 115].

Другое направление селекционной работы, имеющее важное практическое значение, – повышать прочность скорлупы. Существующие способы позволяют выявить толщину скорлупы и связанную с ней прочность по удельной массе яйца. Для этого требуется погружать яйцо в раствор поваренной соли. Существуют готовые таблицы соответствия значений удельной массы раствора и толщины скорлупы. Так, если яйцо плавает во взвешенном состоянии при удельной массе раствора 1,070, это соответствует толщине скорлупы 0,29 мм. Чем выше показатель удельной массы, тем толще скорлупа: 1,080 – 0,33 мм; 1,090 – 0,97 мм и 1,095 – 1,4 мм [99].

Каждый год в племенных хозяйствах осуществляют бонитировку птицы – комплексную оценку племенных качеств. Перед бонитировкой анализируются записи племенных книг с целью собрать данные о продуктивных и племенных качествах птицы. По итогам обработки племенной информации птицу индивиду-

ально оценивают по внешнему виду, проверяют по качеству потомства, затем по результатам относят ее к определенному бонитировочному классу [33, 35, 37, 38, 65, 99].

Куриный эмбрион является доступной биологической моделью для осуществления культивирования вируса гриппа, при этом сохраняя достаточный уровень выживаемости эмбриона при инокуляции и выработке вирусной аллантаической жидкости, используемой в дальнейшем производстве противогриппозных вакцин.

По состоянию на сентябрь 2020 г. в мире объем производимых вакцин по эмбриональной технологии составляет не менее 460 млн доз в год, что требует производства не менее 950 млн куриных эмбрионов. Организация производства, в целях минимизации рисков, предполагает, что основные производители куриных эмбрионов располагаются в разных регионах, характеризующихся разными климатическими факторами, существенно влияющими на обеспечение достаточной производительности и биологической защиты поголовья. Наиболее приспособленными являются регионы центральной полосы, характеризующиеся умеренным климатом и отсутствием резких температурных изменений, способствующих изменению эпидемиологической обстановки [44, 46, 49, 114, 141, 147].

Технология производства противогриппозных вакцин с использованием куриных эмбрионов является наиболее доступной и имеет широкое применение в обеспечении населения защитой от распространения сезонной гриппозной инфекции. Технология производства включает в себя следующие операции.

Получение рабочего посевного материала. После объявления Всемирной Организацией Здравоохранения (февраль-март) штаммового состава для Северного полушария, каждому предприятию, осуществляющему производство противогриппозных вакцин, предоставляется высокопродуктивный реассортант каждого типа вируса гриппа. Используя реассортант, производится пассирование вируса на куриных эмбрионах. Период до 3 суток, количество пассажей от 4 до 6.

Приемка куриных эмбрионов. Предприятие осуществляет приемку куриных эмбрионов в объеме от 135 до 165 тыс. единиц. Входной контроль осуществляет

визуальный осмотр упаковки, выборочный контроль эмбриона, контроль наличия документов (ветеринарное свидетельство). Длительность 1,5 ч.

Подготовка эмбрионов к использованию. Перекладка в технологические лотки (автоматически). Длительность до 8 часов. Отбраковка эмбрионов, имеющих нарушения целостности скорлупы (0,3-1 % от объема поступившей партии).

Дополнительная инкубация. Применяется в целях отдыха эмбриона перед операцией заражения, а также доведения параметров эмбриона до необходимого уровня. Длительность 16-24 часа.

Первичное овоскопирование. Осуществляется процесс ручного овоскопирования поступивших и подготовленных эмбрионов в целях отбраковки эмбрионов, обладающих признаками замедления или полной остановки развития. Длительность 10-12 часов (до 4 % от объема поступившей партии).

Заражение (инокуляция) куриных эмбрионов. Стадия включает: приготовление раствора рабочего разведения вируса с определенным значением инфекционной активности. Инокуляция посредством автоматического введения рабочего разведения вируса объемом 0,2 мл на 1 куриный эмбрион.

Для определения титра вируса используют эритроциты петухов для проведения реакции гемагглютинации РГА, что в свою очередь связано с качеством поступающего материала. Чтобы добиться высокого качества эритроцитарной суспензии, являющейся биоматериалом, необходимо уделять особое внимание технологии содержания петухов. Перспективным направлением в развитии такой технологии является внедрение методов повышения адаптивности и стрессоустойчивости животных, в том числе и птицы. Большинство исследований посвящены курам-несушкам в промышленном птицеводстве. Помимо этологических признаков, интерьерным маркером, определяющим адаптацию петухов к условиям содержания в минифермах, является динамика показателей крови, в том числе концентрация гемоглобина и количество эритроцитов.

При изучении адаптации шестимесячных петухов, подготавливаемых к забору крови для получения эритроцитарной суспензии, выявили оптимальные условия их содержания в трехъярусных клеточных батареях минифермы, распо-

ложенной на 60 м². Выявили, что петухов в клеточные батареи необходимо подсаживать не менее чем за 2 недели до начала забора крови и циклично, в одно и то же время суток, выполнять первоначальные технологические процессы (кормление, смена режимов бодрствования и сна, чистка клеток и т.д.). К этим условиям особи адаптируются и перестают тревожно реагировать на происходящие работы. Также важно соблюдать оптимальные параметры микроклимата. В противном случае у птиц наблюдаются стрессы, сопровождающиеся снижением качества биоматериала, забираемого у них для проведения качественных и количественных анализов при производстве вакцин.

Использование эритроцитарной суспензии петухов с птицефабрик не всегда возможно, что связано с разными требованиями к птице промышленных стад и петухам-донорам крови для фармацевтической деятельности. Назрела необходимость разработки технологии содержания петухов-доноров на минифермах, приспособленных к забору биоматериала для дальнейшего его использования при приготовлении противогриппозных вакцин. При формировании стада петухов-доноров необходимо учитывать их этологические особенности, не использовать альфа-самцов. Важно внимательно отнестись к техническому световому оборудованию на миниферме, оптимально использовать светодиодные лампы. Для эффективной работы минифермы, чтобы еженедельно обеспечивать фармацевтическое предприятие требуемым количеством эритроцитарной суспензии (400-500 мл), необходимо помещение в 60 м²; в основном стаде одновременно содержать 40 петухов в двух трехрядных клеточных батареях; производить их рассадку по 3-4 головы в клетку, еще 5 особей – иметь в резерве. Оптимально миниферма должна быть укомплектована 13-ю клетками, 2 из которых – боксы для восстановления птицы после взятия крови. Полную смену поголовья необходимо производить 4 раза в год, согласно утвержденному графику поклеточной смены петухов. При размещении клеток в три яруса важно обеспечить в помещении светодиодное техническое освещение, что даст возможность птице, независимо от яруса, комфортно себя чувствовать.

Инкубация зараженных куриных эмбрионов. Осуществляется в специальных инкубационных устройствах при температуре 33-35 °С в течение 36-48 часов.

Вторичное овоскопирование. Осуществляется процесс ручного овоскопирования прошедших инкубирование эмбрионов в целях отбраковки эмбрионов, обладающих признаками замедления или полной остановки развития. Длительность 10-12 часов (до 10 % от объема поступившей партии).

Охлаждение куриных эмбрионов. В целях недопущения осаждения вируса осуществляется охлаждение эмбрионов для последующей стадии извлечения аллантоисной жидкости. Длительность 12-24 часа, температура охлаждения 2-6 °С.

Сбор вирусосодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ). Сбор ВАЖ осуществляется автоматическим образом. Скорость 200 КЭ/минуту, объем сбора от 7 до 12 мл. Проведение анализа по определению содержания белковых фракций (метод Лоури).

Инактивация ВАЖ. Осуществляется посредством внесения в ВАЖ инактивирующего агента (в-пропиолактона). Длительность операции 12-14 часов.

Осветление (сепарация) ВАЖ. Очистка ВАЖ от дебриса куриных эмбрионов посредством сепарации (8-12 л/мин). Длительность 2-3,5 часа.

Микрофльтрация. Производится предварительная фильтрация с применением патронных фильтров и последующая микрофльтрация посредством применения установок тангенциальной фильтрации и диафльтрации в целях освобождения от побочных белков размерностью более 0,1 мкр. Длительность операции до 6 часов.

Ультрафльтрация и концентрирование. Производится автоматически с использованием буферного раствора. Длительность операции до 10 часов.

Получение сахарозного вирусного концентрата (СВК). Операция осуществляется на проточных центрифугах при скорости до 30 тыс. об./минуту. Длительность операции 12-16 часов. С последующим отбором фракций СВК и заморажи-

вания отобранных фракций при температуре -20°C . Срок хранения не более 12 месяцев.

Получение моновалентов вакцин. Операция включает в себя процесс размораживания СВК, добавление детергента, процесс расщепления, процесс диафильтрации и стерилизующей фильтрации. Проведение количественного анализа с применением метода одиночной радиальной иммунодиффузии и определение количественного содержания гемагглютинина.

Сведение моновалентов вакцин в целях получения тривакцины для препарата «Ультрикс» и четырехвалентной вакцины для «Ультрикс Квадри». Лабораторный контроль специфической активности (продолжительность 24 часа).

Производство готовой лекарственной формы. Операция включает в себя розлив вакцины в преднаполненные шприцы, инспекцию, сборку и маркировку шприцев, упаковку и сериализацию партии готовой продукции. Производительность до 265 тыс. доз в сутки.

Одним из важных факторов, влияющим на технологию производства противогриппозных вакцин, является качество применяемого сырья – куриного эмбриона. От его качества зависит объем производимого активного агента – гемагглютинина. Нарботка ВАЖ зависит от особенностей куриных эмбрионов, подбора параметров, обеспечивающих получение максимального объема аллантоисной жидкости для инкубации вируса гриппа, его последующей очистки от побочных белков и иных примесей. Куриный эмбрион, обладающий устойчивым развитием, должен обеспечить достаточный уровень выживаемости при транспортировке до места производства, а также выживаемости при получении иммунобиологической нагрузки при инокуляции вируса. Параметры сбора ВАЖ и ее очистки могут зависеть от особенностей онтогенеза каждого отдельного кросса и подбора параметров для использования в процессе производства. Производство противогриппозных вакцин предполагает два основных процесса – наработку вирусосодержащей жидкости и очистку от примесей. Количественный анализ выхода гемагглютинина определяется на конечных стадиях методом Орид, при этом контроль эффективности осуществляется посредством анализа общего белка. Эксперимен-

тально установлено, что соотношение результат/оценки по методу Лоури к методу определения Орид составляет 70 %, что позволяет на стадиях сбора вирусосодержащей аллантоисной жидкости определить содержание гемагглютинина в ВАЖ. Стадия очистки вирусосодержащей жидкости предполагает проведение комплекса операций, обеспечивающих последовательное избавление от примесей и сохранение действующего агента (гемагглютинина) в субстрате. Объем выхода на стадиях очистки может составлять от 50 % до 70 % по показателю «основной белок». Онтогенез развития куриного эмбриона влияет на появление примесей и побочных белков, что, в свою очередь, определяет применение куриного эмбриона в зависимости от его возраста.

Грипп – острое респираторное вирусное заболевание, вызываемое вирусами гриппа и выделяющееся среди острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) у людей возможностью тяжелого течения болезни. Грипп ассоциируется с высокой смертностью во время пандемий, эпидемий и спорадических вспышек (Javanian M., et. al, 2021). Грипп вызывается вирусами гриппа. Грипп уже достаточно хорошо изучен и давно известен, но из-за того, что вирусы гриппа быстро мутируют, до сих пор нет эффективных противогриппозных препаратов [32, 34, 45, 78, 85, 120].

Вакцина (от латинского *vaccinus* – «коровий», *разг.* – прививка) – медицинский препарат исключительно биологического происхождения, который способствует появлению у организма приобретенного иммунитета к конкретному типу вируса. Антиген по определению может быть представлен любым веществом, которое организм рассматривает как потенциально опасное или чужеродное, для борьбы с которым организм начинает вырабатывать антитела, что, в свою очередь, определяется как иммунный ответ. Вакцина чаще всего содержит агент, который по свойствам похож на вызывающий заболевание микроорганизм, зачастую получается из более слабых или убитых форм микроба или одного из его поверхностных белков [13, 55, 124, 130, 138, 154, 157, 162].

Вакцины разрабатываются как для животных (крупный рогатый скот, свиньи, собаки, кошки и многие другие) так и для людей. Особенностью является

только то, что заболевания у них чаще всего разные, но принципы производства вакцин – сходные [127, 131, 137, 148, 151, 152, 153, 158].

Так, разработкой технологии производства живой культуральной тривалентной вакцины против сезонного гриппа в ФГБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Новосибирск) занимался большой коллектив: Е.А. Нечаева, Т.Ю. Сенькина, И.Ф. Радаева, М.А. Богрянцева, Ю.С. Нечаев, Н.Б. Думченко, Л.Г. Руденко. В качестве клеточного субстрата ими было предложено использовать культуру клеток MDCK (клетки почки собаки Мадин-Дарби – модельная линия клеток млекопитающих, используемая в биомедицинских исследованиях). Данная культура применяется для широкого спектра исследований клеточной биологии, включая полярность клеток, клеточно-клеточные спайки (называемые адгезионными соединениями), коллективную подвижность клеток, а также реакции на факторы роста. В результате проведенных исследований впервые в России разработана технология производства живой культуральной тривалентной вакцины против сезонного гриппа [75].

И.Б. Есмагамбетов, С.В. Алексеева, Х.С. Саядян (2016) считают, что «универсальные вакцины против вируса гриппа будут сочетать в себе как компоненты, стимулирующие выработку кросс-реактивных антител, так и компоненты, индуцирующие Т-клеточный иммунный ответ». Также, утверждают авторы, «следует внимательно подбирать оптимальные средства доставки антигенов в организм. В качестве транспорта могут выступать рекомбинантные вирусные векторы, рекомбинантные вирусные частицы, бактериальные дисплеи и т.д.» Также, по их мнению, «необходимо уделять внимание способу их введения, поскольку для предотвращения заболевания гриппом имеет значение не только системный, но и мукозальный (барьерный) иммунный ответ» [29].

Оценку стабильности показателей качества отечественной вакцины против гриппа, предназначенной для иммунизации населения в течение эпидемического сезона 2017-2018 гг., провели сотрудники ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» П.В. Демидова, К.М. Мефед, Д.С. Давыдов, К.А. Саркисян (2018). В ходе исследований они пришли к следующим выводам:

«1. Полученные в ходе анализа данные определения количественных показателей подтверждают необходимость постоянного мониторинга и статистического анализа тенденций (трендов) несоответствия или изменения результатов оценки качества лекарственного препарата – вакцина гриппозная, инактивированная полимер-субъединичная.

2. Результаты статистического анализа должны учитываться при выборе схем подтверждения соответствия и определении показателей спецификации, по которым проводятся испытания в рамках процедуры выпуска серий (lot release), что соответствует рекомендациям ВОЗ.

3. Необходима координация порядка проведения анализа качества образцов в рамках предрезализационных испытаний между производителем и организацией, уполномоченной на выпуск серий в целях оценки сходимости результатов.

4. Полученные результаты подтверждают необходимость соблюдения правил формирования выборок образцов, предусмотренных в серии технических документов Международной организации по стандартизации (ISO) серии 2859, которым соответствуют государственные стандарты Российской Федерации серии ГОСТ Р 50779, а также ISO 8422» [9, 29, 50, 96, 103].

Л.В. Черенова, Т.В. Каштиго, Х.С. Саядян, М.М. Шмаров (2017) отмечают, что применение аденовекторов, несущих иммунодоминантные антигены разных патогенов, «в качестве вакцин против инфекционных заболеваний – перспективное направление современной медицины. Как показывают результаты многочисленных клинических испытаний, аденовирусы в используемых для вакцинации дозах безопасны и не вызывают значительных побочных эффектов». По их мнению, «вакцины на основе аденовирусов могут заслуженно занять место в профилактике и терапии заболеваний, ранее считавшихся неизлечимыми» [71, 74, 77, 117, 121].

Однако отметим, что при разработке вакцины против вируса гриппа – как для человека, так и для животных, почти не учитываются генетические особенности объектов, от которых получается биоматериал, применяемый для производства вакцины [9, 14, 17, 18, 25, 58, 75, 78, 82, 96, 120, 132].

Е.С. Федорова, О.И. Станишевская, Ю.Л. Силукова (2017) исследовали использование селекционных приемов (на примере кур русской белой породы), которые призваны повысить выход аллантаино-амниотической жидкости. В итоге «за два поколения отбора увеличилась частота встречаемости кур с высоким выходом экстраэмбриальной жидкости их эмбрионов (более 0,200 мл/г и более 10 мл) на 23,4 %, масса яиц – в среднем на 4,7 г, яйценоскость за 7 месяцев кладки – на 6 яиц. Цель исследователей – импортозамещение, но следует понимать, что у изучаемой породы кур низкая яйценоскость за 52 недели (13 месяцев) F_0 – 134; F_2 – 140 штук» [58, 89, 94, 102].

Современные технологии содержания птицы позволяют проводить процесс выращивания молодняка, содержание поголовья вне зависимости от изменения климатических факторов, но требуют достаточного высокого потребления энергоресурсов для обеспечения соответствующих условий.

Производство противогриппозных вакцин имеет четко выраженный сезонный фактор. Начало производство вирусных концентратов, полуфабрикатов для производства готовых вакцин осуществляется после принятия решения Всемирной организацией здравоохранения по штаммовому составу [93], для южного полушария – в сентябре, а северного полушария (для Российской Федерации) – в феврале. Технологический процесс производства противогриппозных вакцин состоит из нескольких технологических стадий и обязательных регуляторных процедур, подтверждающих качество препарата, в том числе подтверждения иммуногенности и безопасности каждой серии препарата. Учитывая особенности технологии, выпуск в гражданский оборот произведенных серий противогриппозных вакцин осуществляется с августа до конца ноября, что соответствует периоду профилактических мер по защите населения [14, 16, 34, 52, 75, 120].

В целях обеспечения своевременного производства начало поставок биологического материала (куриный эмбрион) осуществляется с февраля. К этому времени птицеводческие хозяйства должны обеспечить стабильный процесс производства; должны быть сформированы поголовья, обеспечен достаточный рацион питания и вакцинация поголовья в целях обеспечения работы поголовья до октяб-

ря и возраста кур не более 420 дней. Несоблюдение временного фактора в существенной степени влияет на характеристики оплодотворенного яйца и возможности эффективного культивирования вируса. Несоблюдение временного фактора в существенной степени отражается на объеме поставляемой продукции, способности эмбрионов выдерживать иммунобиологическую нагрузку при заражении и объем производства аллантаической жидкости [46, 63].

Рацион питания является важнейшей составляющей, определяющей как способность равномерного и достаточного развития эмбриона, так и сокращение падежа поголовья, и обеспечение высокого уровня оплодотворенности. Достижение достаточного уровня оплодотворенности определяется способностью петухов осуществлять качественную работу; оптимальным соотношением курица-несушка/петух является 7:1. Несмотря на высокий уровень конверсии корма уровень оплодотворенности может составлять до 90 %, в противном случае при изменении соотношения оплодотворенность может снижаться до 60 % [4, 68, 91].

Рационы питания могут быть изменены в зависимости от климата и возраста птицы посредством дополнения компонентов, повышающих энергетический потенциал питания, обеспечивающих усвоение микроэлементов.

Вакцинация является не только мерой биологической защиты, но и фактором, существенно влияющим на физиологические процессы жизнедеятельности поголовья и развитие эмбрионов. Схемы вакцинации могут быть изменены в зависимости от возраста птицы и особенностей состояния климата региона, где размещается птицеводческое хозяйство.

Таким же важным фактором является обеспечение необходимых температурных режимов в процессе производства куриных эмбрионов, а именно:

– содержание поголовья, изменение параметров влажности, температурного режима, воздухообмена может привести к резкому снижению оплодотворенности и ослаблению здоровья птицы, что может вызвать высокую смертность эмбриона при инкубации вируса после заражения;

– сбор и хранение оплодотворенного яйца, изменение параметров может отразиться на процессе равномерного выращивания эмбрионов, что может привести

к снижению объема сбора аллантаической жидкости (при недостаточном развитии эмбриона) или наличию дебрисных белков, получаемых в процессе жизнедеятельности эмбриона и, как следствие, к высоким потерям вирусного материала при осуществлении процесса очистки [6, 7, 12].

Доставка биоматериала до основного места производства осуществляется специализированным транспортом с возможностью сохранения температурного режима (28-34 °С) и принудительного притока воздуха. Учитывая высокую удаленность производителей биоматериала, доставка может осуществляться на расстояние до 1400 км за 30 часов, что, в свою очередь, может привести к нарушению аэробных процессов, ослаблению жизнедеятельности эмбриона и неспособности выдерживать иммунобиологическую нагрузку при заражении и последующем культивировании. При достаточно высокой внешней температуре более 25 °С, особенно в летнее время, необходимо осуществлять проветривание каждые 7 часов.

Анализ источников показал, что использование куриных эмбрионов от промышленных птиц при производстве противогриппозных вакцин предполагает определение кроссов, обеспечивающих высокий уровень получаемой аллантаической жидкости, стойких к применению иммунобиологической нагрузки, подбора адаптивного рациона питания, вакцинации, а также соблюдения особых требований в части содержания поголовья, производства оплодотворенного яйца, инкубации с учетом соблюдения мер биологического контроля, технологии сбора и транспортировки куриных эмбрионов до биологических фабрик, осуществляющих производство иммунобиологических препаратов.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы исследований

Научные исследования проводились в 2016-2019 гг. на куриных эмбрионах, полученных от разных кроссов яичных кур: Родонит-3, Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

Объектом исследования является куриный эмбрион, используемый при производстве противогриппозных вакцин в качестве инструмента культивирования вируса гриппа.

В период исследования куриные эмбрионы получали от следующих птицеводческих хозяйств: ФХ «Чайка», 1-я Минская птицефабрика, БелЗОСП.

Сотрудничество с этими птицеводческими предприятиями было обусловлено следующими факторами:

- наличие опыта работы с инкубационным яйцом;
- наличие в достаточном количестве родительского поголовья, способного обеспечить сбор инкубационного яйца в объеме 170-200 тыс. шт. в срок до 3-5 дней;
- наличие инфраструктуры, достаточной для обеспечения сбора, отбора, инкубации и доставки яйца до биофармацевтического предприятия.

Фермерское хозяйство «Чайка». Основное направление деятельности: производство кур несушек (финальный гибрид). Производственные мощности включают в себя:

- инкубатор (единовременная закладка 1,4 млн шт. оплодотворенных яиц);
- птичники для выращивания цыплят – 500 тыс. голов;
- птичники для выращивания молодняка – 500 тыс. голов;
- птичники для содержания родительских форм – 180 тыс. голов;
- всю необходимую инфраструктуру для осуществления птицеводческой деятельности по производству птенцов и молодняка кросса Родонит-3.

Работа с кроссом Родонит-3 на птицефабрике осуществляется в соответствии с руководством по работе с аутосексным четырехлинейным кроссом Родонит-3, разработанным в ОАО «Племенной птицеводческий завод «Свердловский».

1-я Минская птицефабрика. Основное направление деятельности: производство столового яйца, кур несушек (финальный гибрид). Производственные мощности включают в себя:

- инкубатор (единовременная закладка 3,4 млн шт. оплодотворенных яиц);
- птичники для выращивания цыплят – 1500 тыс. голов;
- птичники для выращивания молодняка – 1100 тыс. голов;
- птичники для содержания родительских форм – 480 тыс. голов;
- всю необходимую инфраструктуру для осуществления птицеводческой деятельности по производству птенцов и молодняка разных кроссов.

Работа с кроссами Хайсекс Браун, Декалб Уайт на птицефабрике осуществляется в соответствии с руководством по племенной работе, разработанным и адаптированным специалистами предприятия совместно с ОАО «Свердловский племенной завод».

Республиканское дочернее унитарное предприятие «Опытная научная станция по птицеводству» (БелЗОСП). Создана в 1968 г. на базе птицесовхоза «Заславский» Минского района. Цель деятельности – создание новых и совершенствование существующих линий и кроссов яичных кур, уток и индеек, разработка ресурсосберегающих технологий производства яиц и мяса птицы, а также норм, рационов и методов ее кормления; разработка и создание машин и оборудования для птицеводства, внедрение и сопровождение достижений науки и передового опыта в племенное и промышленное птицеводство. На предприятии работают 10 научных сотрудников.

Производственные мощности включают в себя:

- инкубатор (единовременная закладка 900 шт. оплодотворенных яиц).
- птичники для выращивания цыплят – 600 тыс. голов.
- птичники для выращивания молодняка – 600 тыс. голов.
- птичники для содержания родительских форм – 180 тыс. голов.

ООО «ФОРТ» – российская биофармацевтическая компания, осуществляющая производство иммунобиологических препаратов по полному циклу. Является крупнейшим в мире производителем противогриппозных вакцин, осуществляет выпуск инактивированных вакцин разных типов под торговыми наименова-

ниями: Совигрипп (инактивированная вакцина с добавлением адьюванта, содержащая антиген по трем типам вирусов; форма выпуска готовой продукции шприц № 1, флакон № 10), Ультрикс (инактивированная вакцина без содержания адьюванта и консерванта, форма выпуска шприц № 1), Ультрикс Квадри (инактивированная вакцина без содержания адьюванта и консерванта, форма выпуска шприц № 1, № 10).

Объем производства – до 35 млн доз противогриппозной вакцины. Поставка продукции осуществляется в рамках национального календаря прививок населения Российской Федерации, а также на внутренние рынки Республики Беларусь, Туркменистана, Узбекистана, Молдовы, Киргизии. Производственный цикл осуществляется с февраля по декабрь, основным сырьем для производства вакцины является куриный эмбрион.

Отсутствие предприятий, соответствующих вышеуказанным показателям, являлось существенным фактором для определения поставщика куриных эмбрионов. Узкая направленность работы птицеводческих хозяйств с отдельными видами яичных кур определила кроссы, применяемые для использования в качестве сырья на биофармацевтическом предприятии ООО «ФОРТ».

Для производства противогриппозных вакцин на биотехнологические предприятия осуществляется ежедневная поставка инкубационных яиц яичных кроссов в возрасте 6-11 дней не менее 145 тыс. штук специализированным транспортом с соблюдением температурного режима, обеспечивающего жизнеспособность каждого эмбриона.

Производство куриных эмбрионов включает следующие стадии:

- сбор инкубационного яйца;
- овоскопирование и сортировка;
- инкубирование (185-200 часов);
- контрольное миражирование;
- упаковка и доставка грузополучателю.

По факту приемки производитель вакцины осуществляет входной контроль по следующим параметрам:

- количество;

- наличие сколов и трещин;
- овоскопирование на предмет обнаружения эмбрионов с остановленным процессом развития; отбраковка.

Уровень технологических потерь не должен превышать 3-5 % от общего поставляемого объема.

В процессе производства противогриппозной вакцины используют 9-11-дневные куриные эмбрионы, полученные от фермерских хозяйств и птицефабрик, благополучных по инфекционным болезням, и осуществляют следующий порядок операций:

Проведение входного контроля. Куриные эмбрионы перекалывают из транспортной тары в полипропиленовые лотки, обрабатывают путем распыления дезинфицирующего средства и отправляют на дополнительную инкубацию.

Подготовка куриного эмбриона к процессу заражения. После дополнительной инкубации, необходимой для релаксации и возобновления жизнедеятельности эмбриона, куриные эмбрионы подаются на заражение, их подвергают сплошному овоскопированию при помощи молоточковых ручных овоскопов. Нежизнеспособные, с неправильно расположенной воздушной камерой эмбрионы отбраковывают и отправляют на утилизацию. Качественные куриные эмбрионы направляют в помещение для заражения на автоматической линии по заражению [90].

Заражение рабочим вирусом гриппа. Заражение эмбрионов проводят отдельно для каждого типа вируса. Лотки с зараженными куриными эмбрионами укладывают на тележку. Тележки с инфицированными эмбрионами поступают в термальные камеры для инкубации эмбрионов [1, 113].

Инкубация вируса. Осуществляется при температуре 31-37 °С, влажности 60-70 %, время инкубирования 48-72 ч в соответствии с рекомендациями для каждого штамма вируса гриппа. Параметры инкубирования могут быть изменены и подбираются для каждого штамма индивидуально.

Подготовка к сбору аллантоисной жидкости. По окончании процесса инкубации эмбрионы подвергают овоскопированию с помощью ручных молоточковых овоскопов. Нежизнеспособные куриные эмбрионы отбраковывают и отправляют на уничтожение на установку для переработки. После отбраковки на овоскопе эм-

брионы передают на стадию «Охлаждение эмбрионов». Охлаждение эмбрионов проводят в холодильной камере, в течение 10-48 ч при температуре 2-8 °С.

Сбор аллантоисной вирусосодержащей жидкости осуществляется автоматически при помощи вакуума. В промежуточную емкость собирается от 6 до 12 мл ВАЖ с одного эмбриона. Из промежуточной емкости ВАЖ перекачивают в снабженную сифоном стеклянную бутылку, установленную в ламинарный шкаф, и передают на стадию «Инактивация ВАЖ» [2, 89].

2.2 Методика и схема исследований

Диссертационная работа выполнена на кафедре зоотехнии и биологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный аграрный университет имени П.А. Костычева» в 2017-2019 годах. Объектом исследований является куриный эмбрион (инкубационное яйцо) для культивирования вируса гриппа при производстве вакцин на биофармацевтическом предприятии «ФОРТ» (Россия, Рязанская область, Окское поселение, 1а). Куриные эмбрионы получали от пяти кроссов отечественного и зарубежного производства с трех птицефабрик:

- кросс Родонит-3 (птицефабрика «Чайка», Россия, Республика Татарстан, Муслюмово, ул. Молодежная, д. 7);
- кроссы Хайсекс Браун, Декалб Уайт (1-я Минская птицефабрика, Республика Беларусь, Минская область, п. Большевик);
- кроссы Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный (БелЗОСП, Республика Беларусь, Минская область, г. Заславль, ул. Юбилейная, 2а).

Научно-исследовательская работа выполнялась с использованием зоотехнических, физиологических, биохимических, экономических методов.

В качестве основных параметров исследования использовали оценку поставляемых оплодотворенных яиц (куриные эмбрионы) и влияние каждой отдельной партии на получение количественного содержания антигена с каждой единицы, куриного эмбриона, за период 2016-2019 гг. по схеме, приведенной в таблице 1.

Таблица 1 – Схема проведения исследований

Повышение эффективности использования куриных эмбрионов яичных кроссов при производстве противогриппозных вакцин
Проводимые исследования
Исследование 1
<p>Определение параметров использования куриных эмбрионов, используемых при производстве противогриппозных вакцин</p> <p>Изучаемые показатели:</p> <p>Масса куриных эмбрионов, г.</p> <p>Характеристика ВАЖ, визуально</p> <p>Гибель эмбрионов, %</p> <p>Объем ВАЖ, мл</p> <p>Выход гемагглютинаина, %</p>
Исследование 2
<p>Оценка использования куриных эмбрионов различных яичных кроссов: Родонит 3 (n= 444 тыс. голов.), Декалб Уайт (n= 441 тыс. голов), Хайсекс Браун (n= 441 тыс. голов), Беларусь аутосексный (n= 160 тыс. голов), Беларусь коричневый (n= 167 тыс. голов)</p> <p>Изучаемые показатели:</p> <p>Объем извлекаемой ВАЖ, мл</p> <p>Возраст птицы, дни</p> <p>Гибель эмбрионов, % (технологические потери)</p>
Исследование 3
<p>Оценка рационов питания и схем вакцинации поголовья кур, используемого при производстве куриных эмбрионов различных кроссов яичных кур: Родонит 3 (n= 444 тыс. голов.), Декалб Уайт (n= 441 тыс. голов), Хайсекс Браун (n= 441 тыс. голов), Беларусь аутосексный (n= 160 тыс. голов), Беларусь коричневый (n= 167 тыс. голов)</p> <p>Изучаемые показатели:</p> <p>Схемы вакцинации. Состав рационов кормления</p> <p>Показатель обменной энергии рациона питания, Ккал/100 г</p> <p>Содержание сырого протеина в рационах кормления (%) кур кроссов Родонит 3, Декалб Уайт, Хайсекс Браун, Беларусь аутосексный, Беларусь коричневый</p>
Расчет экономической эффективности использования эмбрионов яичных кроссов кур

2.3 Методы исследований

В ходе научно-исследовательской работы проводилось изучение кроссов яичных кур, а также определение зависимости зоотехнических, физиологических, биохимических факторов внешней среды.

В первом исследовании производилась оценка технологии производства противогриппозных вакцин и факторов, влияющих в зависимости от развития эмбриона. В ходе исследования определялся оптимальный возраст эмбриона и влияние его на образование вирусосодержащей аллантоисной жидкости с учетом технологических особенностей производства инактивированных противогриппозных вакцин.

Оценка возраста эмбриона осуществлялась посредством извлечения и взвешивания выборочного количества образовавшихся эмбрионов и осуществления оценки использования поставленной партии в технологическом производстве на стадии образования вирусосодержащей аллантоисной жидкости; использования данной субстанции на стадии очистки методом тангенциальной фильтрации с учетом определения потерь получаемого компонента (гемагглютинина) в готовом моноваленте вакцины.

Исследование проведено в период марта-сентября 2016 г. в ходе производственного процесса изготовления противогриппозных вакцин сезона 2016-2017 годов. В качестве исходного сырья использовались оплодотворенные яйца (куриные эмбрионы):

– кросс Родонит-3 (птицефабрика «Чайка», Россия, Республика Татарстан, Муслумово, ул. Молодежная, д. 7);

– кроссы Хайсекс Браун, Декалб Уайт (1-я Минская птицефабрика, Республика Беларусь, Минская область, п. Большевик).

Во втором исследовании проведен анализ таких показателей, как сбор вирусосодержащей аллантоисной жидкости, объем получения гемагглютинина и объем технологических потерь при производстве противогриппозных инактивированных вакцин в зависимости от кросса яичных пород кур.

В ходе исследования, осуществленного в период 2016-2019 гг., при производстве противогриппозных вакцин сезонов 2016-2017, 2017-2018, 2018-2019 и 2019-2020 годов произведена оценка параметров при использовании следующих кроссов яичных кур:

- кросс Родонит-3;
- кроссы Хайсекс Браун, Декалб Уайт;
- кроссы Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

Объем собираемой вируссодержащей аллантоисной жидкости определялся расчетным методом. Расчет производился посредством соотношения полученного объема к общему количеству использованных куриных эмбрионов в одной поставке (Объем собранного ВАЖ, л / Общее количество куриных эмбрионов, шт.)

Выход целевого продукта (гемагглютинин) с одной единицы готовой продукции определялся расчетным методом по факту проведения биохимического анализа моновалента, полученного при производстве противогриппозных вакцин. Расчет проводился посредством соотношения полученного количества гемагглютинина к общему количеству использованных куриных эмбрионов в одной поставке (объем получаемого количества гемагглютинина, г / общее количество куриных эмбрионов, шт). Контрольное значение от 20 до 100 мкг/ед.

Объем технологических потерь куриных эмбрионов (потеря жизнеспособности) вычислялся расчетным методом. Расчет производился посредством соотношения учета отбракованных эмбрионов от общего количества поставленной продукции к общему количеству поставки (брак входного контроля, шт + брак на стадии овоскопирования № 2, шт) / общее количество поставленного биоматериала, шт).

В качестве технологических потерь рассматривались эмбрионы, отобранные из общего объема поставки на стадии входного контроля первого и второго овоскопирования по следующим параметрам:

- несоответствие по массе яйца;
- наличие трещин на скорлупе;
- наличие загрязнения;

– отсутствие признаков жизни эмбрионов: разрыв сосудов, отсутствие признаков, соответствующих периоду развития эмбриона.

В ходе заключительного исследования проводилась оценка влияния кормовой составляющей и схемы применяемой вакцинации молодняка. Оценка проводилась по факту определения зависимости рациона питания и схемы вакцинации в исследуемом периоде и образования технологических потерь при использовании куриных эмбрионов (усредненный показатель за период).

В ходе исследования, осуществленного в период 2016-2019 гг., при производстве противогриппозных вакцин сезонов 2016-2017, 2017-2018, 2018-2019 и 2019-2020 годов, произведена оценка характеристик рационов питания и применяемых схем вакцинации при использовании следующих кроссов яичных кур:

- кросс Родонит-3;
- кроссы Хайсекс Браун, Декалб Уайт;
- кроссы Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

Определение количественных и качественных показателей ВАЖ

Для оценки количественных и качественных показателей содержания геммагглютина в аллантаоисной жидкости используют метод одиночной радиальной иммунодиффузии. Метод в соответствии с ОФС 1.7.2.0023.15 «Определение белка колориметрическим методом (метод Лоури) в биологических лекарственных препаратах» основан на реакции белков с солями меди (II) в щелочном растворе и восстановлении фосфорномолибдено-вольфрамового реактива (реактив Фолина-Чокальтеу) с образованием окрашенных комплексных соединений [22, 52].

Калибровочные растворы. Растворяют стандартный образец ОСО содержания белка по Лоури в воде очищенной или буферном растворе pH 7,2±0,2. Из полученного стандартного раствора получают калибровочные растворы, имеющие известные концентрации белка, равномерно распределенные в интервале 20-160 мкг/мл.

Испытуемый раствор. Готовится раствор образца, подлежащего испытанию, в очищенной воде или буферном растворе рН $7,2 \pm 0,2$ с концентрацией белка, которая лежит в пределах интервала концентраций калибровочного графика.

Реактив А. В мерную посуду объемом 1000 мл следует поместить 20 г натрия карбоната, растворить в 0,1 М растворе натрия гидроксида и довести объем до отметки этим же раствором, затем перемешать.

Реактив Б. В мерную посуду объемом 100 мл следует поместить 0,5 г меди сульфата, 1,0 г калия-натрия виннокислого, растворить в очищенной воде и довести до отметки.

Реактив В. Перед анализом смешать 50,0 мл реактива А и 1,0 мл реактива Б.

Методика. К 1,0 мл каждого из калибровочных растворов, 1,0 мл испытуемого раствора и 1,0 мл раствора сравнения добавляют по 5,0 мл реактива В. Содержимое перемешивают, оставляют при комнатной температуре на 10 минут. Затем в каждую пробирку добавляют 0,5 мл реактива Фолина-Чокальтеу, разбавленного перед употреблением водой в 2 раза, быстро и тщательно перемешивают и оставляют на 30 минут при комнатной температуре. Выполняют измерение оптической плотности испытуемого и калибровочных растворов на спектрофотометре при длине волны 750 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм, при этом используя в качестве раствора сравнения воду очищенную или буферный раствор рН $7,2 \pm 0,2$. Затем следует построить график зависимости оптических плотностей калибровочных растворов от концентраций белка. На основании параметров калибровочной кривой и значений оптической плотности испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.

Содержание белка (мкг) в растворе рассчитывают по формуле:

$$Y = C \times P, \quad (1)$$

где С – концентрация белка, полученная по калибровочному графику, мкг/мл;

Р – разведение испытуемого образца.

Специфическая активность – один из основных показателей качества лекарственных средств, который позволяет оценить способность препарата проявлять определенный биологический эффект.

Для количественного определения гемагглютинина используют ОРИД (одиночная радиальная иммунодиффузия) – широко применяемый метод определения белков (гемагглютинина) в биологических жидкостях, основанный на реакции преципитации.

Принцип радиальной иммунодиффузии состоит в оценке диаметра колец преципитации, возникающих при взаимодействии в геле антигенов и антител.

Гемагглютинин (ГА), пройдя стадию диффундирования из лунок агарозного геля в радиальном направлении, вступает в химическую реакцию со специфическими антителами сыворотки, которые находятся в агарозе, и затем образует в геле зону преципитации. Размеры зоны преципитации, которая окружает лунку, прямо зависят от количества антигена, который был внесен в лунку.

Для проведения реакции берут стеклянные пластины 60×90 мм. Предварительно их обезжиривают кипячением в воде с применением бытовой химии, далее промывают дистиллированной водой, высушивают. Приготовленную заранее агарозу доводят до расплавления в кипящей водяной бане при 100 °С, затем не менее 30 минут доводят охлаждение до 56 °С. Когда температура установится на 56 °С, к агарозе добавляют предварительно подогретую моноспецифическую сыворотку в таком объеме, который указан в описании стандарта. Агарозу неторопливо и тщательно смешивают с сывороткой. При этом следует так контролировать процесс, чтобы не допустить образования пузырьков воздуха. Смесь, полученную из расплавленной агарозы с сывороткой, наносят на пластины и оставляют на полчаса при комнатной температуре.

В застывшей агарозе далее следует пробойником сделать шесть рядов по четыре лунки в каждом, расстояние от края пластины не менее 15 мм. Расстояние между лунками следует выдержать не менее 10 мм. Затем требуется удалить агарозу из сделанных лунок. Далее на каждой пластине проводится исследование стандарта и образцов, для чего каждому образцу отводится два ряда лунок. Те же абсолютно образцы проверяют и на второй пластине, но иным образом: в этом случае произвольно меняют расположение проб и стандарта. Заранее готовят смесь детергента и антигенов с последующей инкубацией при комнатной темпе-

ратуре в течение 30 получаса. К этому моменту должны быть готовы разведения антигенов: неразведенный антиген; 0,75; 0,50 и 0,25 (или 1:0, 3:1, 1:1, 1:3).

Для правильного хода реакции важно, чтобы гемагглютинин, содержащийся в образце и в стандартном антигене, был в обоих образцах в близких количествах, чтобы обеспечить сравнимость параметров зон преципитации. Если из паспортных данных следует, что образец содержит гемагглютинина меньше, чем стандарт, то требуется предварительно развести стандарта. А если стандарт активен менее образца, то следует развести его. В прилагаемых инструкциях к стандартным образцам указаны рекомендуемые параметры разведения.

Последующими действиями в лунки помещают каждое разведение, причем начинают с разведения 1:3. По прошествии получаса пластины размещают во влажной камере на 18-24 часов, обеспечив комнатную температуру. Затем следует слой геля накрыть плотной фильтровальной бумагой и поставить под груз. Нижний слой бумаги далее не трогаем, а остальные слои меняем каждые 10-15 минут, пока не прекратится впитывание влаги из агарозы. Затем пластины следует подсушить, далее их заливают предварительно приготовленным красителем (Кумасси бриллиантовый голубой), подвергают окраске длительностью не менее полчаса. По окончании окрашивания пластины обесцвечивают в растворе для обесцвечивания гелей. Процесс проводить до момента появления четких колец преципитации на слабо окрашенном фоне. После окончания подсушивания следует выполнить измерение колец преципитации в двух взаимно перпендикулярных направлениях.

Результаты учитывают, выполняя измерение колец преципитации с помощью штангенциркуля. Первоначально производят вычисление квадратов диаметров колец преципитации каждого антигена на основании средних величин по двум пластинам. В строящемся затем графике откладывают по оси ординат квадраты диаметров, а по оси абсцисс – разведения антигенов. На графике следует построить все данные так, чтобы зависимость квадрата диаметров от разведений для каждой пробы выражалась прямой линией, которой следует находиться по оси ординат в пределах 3 мм^2 от стандартной кривой. Если получится так, что рассто-

яние между начальными точками тестируемого и стандартного антигена будет превышать 3 мм², то такие результаты следует не учитывать, а нужно точнее выбрать концентрации сыворотки и антигенов.

Далее выполняем действия: на оси ординат между начальными точками кривой стандарта и каждого антигена выделяем среднюю точку, от нее строим прямую, параллельную оси абсцисс, а от нее на уровне разведения 1:3 находим расстояние до кривой тестируемого антигена и стандартного. Количество гемагглютина в пробе рассчитывается по формуле:

$$\text{Где} \quad C = \frac{L_c}{L_{ст}} \times a \times v, \quad (2)$$

L_c , $L_{ст}$ – расстояния по перпендикуляру на уровне разведения 1:0 от средней линии до пересечения с кривыми тестируемого и стандартного антигенов соответственно;

a – содержание гемагглютина (мкг/мл) в стандарте;

v – предварительное разведение пробы;

C – содержание гемагглютина (мкг/мл) в пробе.

Сбор данных осуществлялся с применением компьютерной техники: яйценоскость ежедневно фиксировали, занося в электронную таблицу по факту получения данных, и обрабатывали с помощью табличного редактора Excel 2003. Накопленные по каждой группе изучаемых параметров данные обрабатывались методами вариационной статистики.

Долю влияния рационов питания на показатель гибели эмбрионов определяли методом однофакторного дисперсионного анализа дисперсионного анализа. Биометрическая обработка проводилась по Н.А. Плохинскому (1961) и Е.К. Меркурьевой (1970). Определили среднюю арифметическую (M), ошибку (m), коэффициент изменчивости (Cv), среднее квадратическое отклонение (σ), среднее квадратическое отклонение. В расчетах применялись методики, описываемые Г.П. Антиповым и др. (1995). Ошибка долей определялась по Н.А. Плохинскому (1969).

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Технология производства противогриппозных вакцин, подбор оптимальных параметров использования куриных эмбрионов

3.1.2 Определение параметров использования куриных эмбрионов при производстве противогриппозных вакцин

Для определения наиболее оптимальных параметров использования куриных эмбрионов на производственном комплексе ООО «Форт» проведено исследование, определяющее вес и основные характеристики онтогенеза куриного эмбриона на разных сроках развития и возможности его эффективного использования в процессе производства противогриппозных вакцин.

Исследование проводилось с использованием куриных эмбрионов разных кроссов яичных кур по 3 поставки в объеме не менее 145 тыс. КЭ в заданном параметре развития эмбриона (масса эмбриона, г) от 0,5 г до 6 г, шаг 0,5 г каждого кросса, используемых в текущем производстве (Родонит-3, Хайсекс Браун). Доведение до необходимых параметров осуществлялось посредством корректировки периода инкубации на предприятии-производителе куриных эмбрионов и последующего доведения до необходимого параметра на стадии релаксации. В исследовании проа 8,736 млн. куриных эмбрионов.

Однородность исследования подтверждена соблюдением единых условий использования куриных эмбрионов в технологическом процессе производства противогриппозных вакцин сезона 2016-2017 годов.

В ходе исследования оценивались следующие параметры: возможности использования на стадии заражения (инокуляции); возможности использования на стадии сбора аллантоисной жидкости; процент гибели куриного эмбриона в процессе производства; объем собираемой аллантоисной жидкости; внешний вид аллантоисной жидкости; прогнозный выход гемагглютина (ГА) на стадии очистки.

В ходе исследования удалось определить характеристики поставляемых куриных эмбрионов в зависимости от веса извлекаемого зародыша.

Зародыш массой 0,5...1,0 грамм

- Туловище согнуто, передний конец головы касается хвоста.
- Заметно разрастание головы эмбриона.
- Из первичных мозговых пузырей формируется пять отделов головного мозга. Продолжаются разрастаться глазные бокалы, наружные слои которых образуют пигментный слой сетчатки.
- Аллантаис покрывает эмбрион со стороны воздушной камеры.
- Контуры верхнечелюстного отростка имеют изогнутую линию. Пальцевые пластинки крыла и ног округлены.

Зародыш массой 1,0...1,5 грамма

- Наблюдается начало дифференцировки шейного отдела, что вызывает общее выпрямление зародыша.
- В глазу появляется закладка мигательной перепонки.
- Ротовая часть выдвигается вперед и принимает вид клюва.
- Различим слуховой проход. Второй палец крыла заметно длиннее остальных.
- Пальцы ног как зубья гребня, но заметны перепонки между ними.
- Внезародышевое сосудистое поле охватывает половину желтка. Начинается развитие соматической мускулатуры и скелета, который состоит из хрящевой ткани. Происходит закладка почки.

Зародыш массой 1,5...2,0 грамма

- Заметно увеличено количество амниотической и аллантаисной жидкости.
- Аллантаис покрывает 1/3 поверхности сосудистого поля желточного мешка.
- Промежуток между нижней челюстью и клювом сузился до маленькой выемки.
- Склеральных сосочков глаза 6 штук. Виден рудимент пятого пальца ноги.
- Начало поворота задних конечностей зародыша вокруг своих осей.

– Появляются первые зачатки перьев в виде небольших бугорков, расположенных по средней линии спины, а также у основания ноги и возле клоачного бугорка.

Зародыш массой 2,0...2,5 грамма

– Склеральных сосочков выпуклого глаза стало 13-14 штук. Они образуют по обе стороны от хориоидальной щели глаза полный круг.

– Голова имеет форму, характерную для птиц. Клюв удлинен, замечены ноздри и более выражен яичный зуб на кончике клюва.

– Отчетливо выражен локтевой изгиб крыла.

– Зачатки перьев слабо выступают над поверхностью кожи, по средней области туловища, особенно в области лопатки, шеи и на коже бедра.

– На брюшной стороне сильно выделяется большая печень.

– Аллантаис разросся, покрывает весь амниотический пузырь и большую часть сосудистого поля желточного мешка. В полости аллантаиса накапливается жидкость.

Зародыш массой 2,5...3,0 грамма

– Наблюдается более изогнутый клюв. Мигательная перепонка глаза приближается к склеральным сосочкам. Очертание становится эллипсоидным.

– Зачатки перьев над кожей спины выступают сильнее.

– Сосуды желточного мешка погрузились в толщу желточной энтодермы, всасывающая внутренняя его поверхность увеличилась. Амнион больше заполнен жидкостью и вместе с зародышем достаточно глубоко вдавлен в желток. Сосудистое поле желточного мешка утрачивает функцию дыхания, которое переходит к значительному разросшемуся аллантаису.

Зародыш массой 3,0...3,5 грамма

– Наблюдается полный охват аллантаисом внутренней поверхности скорлупы, кроме небольшого количества белка. Амнион сильно заполнен жидкостью и растянут.

– Округлость век глаза имеет форму эллипса. Мигательная перепонка глаза покрыла ближний ряд склеральных сосочков, доходит до роговицы.

– Ноздри, расположенные у основания клюва, имеют вид щелей. На концах пальцев ног и первом пальце крыла еле заметны зачатки когтей. Исчезают межпальцевые перепонки.

– Появились зачатки перьев вокруг пупочного кольца. Хорошо различимы визуально зачатки перьев на поверхности кожи крыла, ноги, головы, возле глаз, вдоль грудины.

– Перьевые сосочки на спине и шее заметно выступают над кожей.

Зародыш массой 3,5...4,0 грамма

– Наблюдается сомкнувшийся аллантоис. Начало поступления белка в амнион.

– Нижнее и верхнее веко достигает роговицы глаза. Отверстие между веками в виде эллипса. На веках и вокруг слухового прохода появились мелкие перьевые бугорки.

– Перьевые сосочки покрыли все тело. На пальцах ног появляются коготки, а на поверхности плюсны – отдельные поперечные бороздки – зачатки чешуек.

– Первый пух вдоль спины, частично на крыльях и ногах.

– Начинается процесс инволюции первичной почки. В постоянной почке формируются мочевые каналы.

Зародыш массой 4,0...4,5 грамма

– На конечностях наблюдаются когти.

– Тело зародыша, кроме головы, покрыто пухом.

– Отверстие между веками имеет вид очень узкой щели.

– Начало ороговения клюва в зоне яйцевого зуба.

– Выявляется закладка гребня.

– Начинается питание эмбриона белком и абсорбция кальция из скорлупы.

Зародыш 4,5...5,0 массой граммов

– Голова погружена в желточный мешок; усиливается транспорт липидов желточным желтком.

– Появляется пух на голове.

– На конечностях заметны роговые чешуйки. Увеличивается количество амниотической и аллантоисной жидкости.

– Хорошо развит серо-амниотический проток.

– Над клювом хорошо заметен гребешок.

Зародыш 5,0...5,5 грамма

– Наблюдается глубокое вдавление в толщу желточного мешка.

– Все тело покрыто пухом, но наружный слуховой проход остается открытым.

– Заметно увеличен надклювный бугорок – яйцевой зуб.

– На верхней поверхности плюсны и на фалангах пальцев – чешуйки.

– Тело начинает занимать положение вдоль длинной оси яйца.

Зародыш 5,5...6,0 граммов

– Заметно увеличено количество аллантоисной жидкости и мекония.

– Желточный мешок уменьшен, но он закрывает собой голову эмбриона и другие части тела.

– Слуховой проход закрыт пухом.

– Белка в скорлупе очень мало, а вся полость амниона заполнена жидким белком. Длина пушинок увеличена по всему телу.

– Появились складки на коже и на ступне. Хорошо заметны роговые чешуйки на конечностях.

Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры куриных эмбрионов при использовании в производстве противогриппозных вакцин

№	Масса эмбриона, г	Характеристики эмбриона	Использование на стадии заражения	Использование на стадии инкубации вируса	Характеристика ВАЖ	Гибель эмбриона, % (приемка эмбриона, инкубация вируса)	Сбор ВАЖ, мл	Выход ге-магглютинаина, %	Соответствие требованиям производства
1	0,5-1	наблюдается появление век, клюва	+	+	светлая, полупрозрачная	до 60	до 4	20±1,5	не соответствует
2	1-1,5	появление репродуктивных органов	+	+	светлая, мутная	до 40	до 7	30±1,7	не соответствует
3	1,5-2	наблюдается формирование пальцев	+	+	светлая, мутная	до 30	до 8	50±1,6	не соответствует
4	2-2,5	появление сосочков на голове	+	+	насыщенная, мутная	до 20	до 9	70±1,7	соответствует
5	2,5-3	начало появления пушка	+	+	насыщенная, мутная	до 15	до 10	70±1,6	соответствует
6	3-3,5	появление пушка на спине	+	+	насыщенная, мутная	до 15	до 11	50±1,3	не соответствует
7	3,5-4	появление пушка на спине	-	+	насыщенная, мутная, наличие примесей	до 15	до 12	40±1,5	не соответствует
8	4-4,5	тело обрастает пушком	-	+	бурая, мутная, наличие примесей	до 15	до 12	40±1,4	не соответствует
9	4,5-5	тело обрастает пушком	-	+	бурая, мутная, наличие примесей	до 15	до 12	30±1,7	не соответствует
10	5,5-6	наблюдается появление ноздрей, ногтей	-	-	-	не используется	не используется	-	не соответствует

Оценка достоверности результатов определена посредством расчета статических показателей для малых выборок. Результаты обработки данных представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Выход гемагглютина в зависимости массы эмбрионов

№	Масса эмбриона, г	Выход гемагглютина, %, $M \pm m$	Коэффициент изменчивости, $C_v\%$	Стандартное отклонение, σ , %
1	0,5...0,9***	20,0 ± 0,24	8,6	1,7
2	1,0...1,4***	30,0 ± 0,65	15,3	4,6
3	1,5...1,9***	50,0 ± 0,34	4,7	2,4
4	2,0...2,4	70,0 ± 0,34	3,5	2,4
5	2,5...2,9	70,0 ± 0,42	4,2	2,9
6	3,0...3,4***	50,0 ± 0,37	5,2	2,6
7	3,5...3,9***	40,0 ± 0,26	4,6	1,8
8	4,0...4,4***	40,0 ± 0,34	6,0	2,4
9	4,5...5,0***	30,0 ± 1,69	5,6	1,7

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

Наиболее высокий выход гемагглютина наблюдается при использовании эмбрионов, достигших массы 2,0...2,4 г и 2,5...3,0 г – до 70 % при производстве противогриппозной вакцины по сравнению с остальными группами выборки.

На основании данных, представленных в таблице 1, можно заключить, что использование куриных эмбрионов в возрасте 4-5 дней, соответствующих массе эмбриона 0,5...1,4 г, является нецелесообразным ввиду:

- высокого процента гибели при инокуляции 40-60 %;
- низкого выхода аллантоисной жидкости (4-7 мл) с одного куриного эмбриона.

Данные показатели определены недостаточным развитием эмбриона, не способного обеспечить сохранение особенностей организма при заражении вирусом гриппа, что может привести как к резкому снижению выхода гемагглютина, так и увеличению себестоимости противогриппозной вакцины.

Использование куриных эмбрионов в возрасте 11-12 дней, соответствующих весу эмбриона 3,5...5,0 г, является нецелесообразным ввиду:

- низкого выхода гемагглютинаина, не превышающего 40 %;
- причиной снижения выхода целевого агента является резкое увеличение количества примесей, получаемых в результате онтогенеза эмбриона, что в существенной степени осложняет процесс очистки вирусосодержащей жидкости.

Использование куриных эмбрионов в возрасте 13 и более дней, соответствующих весу эмбриона 5,5...6,0 г, не представляется возможным ввиду уже сформировавшихся параметров перьевого покрова, наличия ногтей и развития процессов жизнедеятельности организма, влияющих на количество дебрисных белков, появляющихся в аллантоисной жидкости. При использовании куриного эмбриона в возрасте 13 дней и массе 5,5...6,0 г, учитывая стадию заражения и инкубацию вируса, параметры эмбриона на стадии сбора аллантоисной жидкости будут соответствовать 16 дням жизни и массе 8,5...9,0 г, что приведет к затруднению извлечения ВАЖ и, как следствие, низким количественным показателям.

Использование куриных эмбрионов в возрасте 6 дней (масса эмбриона 1,5...2,0 г) и в возрасте 10 дней (масса эмбриона 3,0...3,5) является нежелательным. Использование эмбрионов, обладающих пограничными параметрами, может привести к снижению выхода гемагглютинаина за счет неспособности в первом случае обеспечивать достаточный уровень выживаемости при получении иммунобиологической нагрузки (гибель эмбрионов до 20 %) и наличием примесей за счет начинающегося формирования перьевого покрова тела эмбриона (выход ГА не более 50 %).

При этом необходимо учесть, что существует высокая вероятность наличия эмбрионов данных параметров в поставляемых партиях ввиду неоднородности поголовья или сбора куриных эмбрионов из птичников с разным возрастом птицы.

Оптимальными параметрами для использования куриных эмбрионов в производстве противогриппозных вакцин являются: срок жизни 7-9 дней; масса эмбриона 2,0...3,0 г.

Куриные эмбрионы, имеющие данные параметры, обладают достаточной устойчивостью к иммунобиологической нагрузке (гибель эмбрионов не превышает 15 %) и высоким выходом по основному агенту (гемагглютинин) не менее 70 %, что обусловлено низким количеством примесей и образования дебрисных белков в процессе ингибирования вируса.

Основываясь на результаты эксперимента, отметим, что стремление производителя противогриппозных вакцин к увеличению получения аллантоисной жидкости не всегда является оправданным и в большой степени зависит от систем очистки, применяемых на производстве.

Использование хроматографических систем очистки кратно увеличивает объем потерь гемагглютинина при достижении избыточной чистоты субстрата, несмотря на достижение сбора ВАЖ 10 и более мл. Наиболее оптимальным методом очистки является система тангенциальной фильтрации, которая достигает высокой чистоты субстрата, получаемой при использовании куриных эмбрионов, соответствующих весу 2,0...2,5 г (7 дней) и 2,5...3,0 г (9 дней).

Внедрение на предприятиях, осуществляющих производство противогриппозных вакцин, методик по определению параметров (вес, г) куриных эмбрионов и корреляции данных показателей с процессами инкубации в птицеводческих хозяйствах, осуществляющих производство куриных эмбрионов, позволят достичь оптимальных характеристик, необходимых для производства инактивированных вакцин.

Полученные результаты исследования эмбрионов кроссов Родонит-3 и Хайсекс Браун позволили определить наиболее приемлемые параметры для использования в производстве противогриппозных вакцин, а именно: эмбрионы, достигшие веса от 2,0 до 2,5 г и эмбрионы, достигшие массы 2,5...3,0 г. Результаты исследований позволили осуществить корректировку технологи-

ческого процесса производства противогриппозных вакцин, что позволило более чем на 20 % увеличить средний выход вирусосодержащей жидкости и осуществить полномасштабное внедрение методов очистки по типу тангенциальной фильтрации, что в последующем нашло отражение в разработке способа производства четырехвалентной вакцины «Ультрикс Квадри», соответствующей требованиям ВОЗ, содержащей не менее 15 мкг гемагглютина на каждого утвержденного штамма вируса гриппа (патент RU №2754398 «Способ получения вакцины для профилактики гриппа») (Приложение Б).

3.2 Оценка использования куриных эмбрионов разных яичных кроссов

3.2.1 Оценка сбора вирусосодержащей аллантоисной жидкости в зависимости от использования эмбрионов, полученных от кур разных кроссов

Учитывая широкое применение разных кур яичных кроссов для производства куриных эмбрионов, используемых в биологической промышленности, было проведено исследование, направленное на оценку количественных показателей сбора вирусосодержащей аллантоисной жидкости от следующих кроссов: Декалб Уайт, Хайсекс Браун, Беларусь аутосексный, Беларусь коричневый и Родонит-3.

В ходе исследования,

был проведен анализ сбора ВАЖ в процесс производства противогриппозных вакцин «Совигрипп», «Ультрикс» и «Ультрикс Квадри». Производилась оценка сбора ВАЖ по каждой поступившей партии, однородность исследования обусловлена соблюдением регламента производства противогриппозных вакцин.

В ходе исследования оценивался количественный показатель – объем ВАЖ (мл), извлекаемый автоматической линией на один куриный эмбрион.

В целях унификации исследований кроссы Декалб Уайт, Хайсекс Браун, а также Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый были объединены в общие группы.

Также в ходе исследования в период 2017-2019 гг. изучалась зависимость получаемых количественных исследований от возраста поголовья птицы.

Исследование включало в себя изучение куриных эмбрионов, получаемых от ФХ «Чайка» (Россия, Татарстан), 1-й Минской птицефабрики (Республика Беларусь), БелЗОСП (Республика Беларусь). В количестве: 2016 г. – 116 партий, 2017 г. – 147 партий, 2018 г. – 132 партии, 2019 г. – 210 партий. Объем одной партии – 145-165 тыс куриных эмбрионов. Объем исследуемых образцов – 90,75 млн куриных эмбрионов.

Результаты оценки сбора ВАЖ в 2016 г. представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Сбор ВАЖ с 1 куриного эмбриона, мл/КЭ (2016 г)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	$M \pm m$, мл	σ , мл	C_v , %
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	$8,3 \pm 0,04$	0,3	3,2
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	$7,0 \pm 0,07^{***}$	0,5	6,8
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	$6,6 \pm 0,07^{***}$	0,5	7,9

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

Результаты исследования показали, что от одного эмбриона кроссов Хайсекс Браун и Декалб Уайт получали вируссодержащей жидкости на 0,4 мл.

(6,1 %), а от эмбриона кросса Родонит-3 на 1,7 мл (25,8 %) больше, чем от одного эмбриона кроссов Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный, от одного эмбриона которых в среднем получали 6,6 мл.

Анализ данных 2017 году показал, что от кроссов Хайсекс Браун и Декалб Уайт получали ВАЖ на 0,75 мл (11,1 %), а от кросса Родонита 3 на 1,4 мл (20,7 %) больше, чем от кроссов Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный, от одного эмбриона которых в среднем получали 6,77 мл ВАЖ (таблица 5).

Таблица 5 – Сбор ВАЖ от одного куриного эмбриона, мл/КЭ (2017 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь-февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее по году
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	9,70±0,09	8,30±0,04	6,80±0,04	8,17
σ, мл			0,6	0,3	0,3	
C _v , %			6,6	3,2	4,6	
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	8,60±0,05 ***	8,00±0,11 ***	6,50±0,07 ***	7,52
σ, мл			0,4	0,8	0,1	
C _v , %			4,5	9,4	7,3	
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	8,50±0,05 ***	7,20±0,14 ***	6,00±0,05 ***	6,77
σ, мл			0,4	1,0	0,4	
C _v , %			4,1	13,5	6,1	

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

С 2017 г. исследовалось влияние принадлежности к тому или иному кроссу на выход вирусодержащей аллантаической жидкости, так и периода использования куриных эмбрионов. Исследование показало зависимость возраста птиц, используемых при производстве эмбрионов, и выхода готовой продукции. Проводился анализ трех основных периодов: декабрь-февраль, март-май и июнь-август, соответствующих возрасту кур 180-270 дней, 271-360 дней и 361-450 дней соответственно. Исследование показало, что максимальный показатель сбора ВАЖ в 2017 г. был достигнут в декабре-феврале (8,5-9,7 мл), а минимальный – в июне-августе (6,0-6,8 мл).

От одного эмбриона кроссов Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый в 2018 г. в среднем получали 7,62 мл ВАЖ, от кроссов Декалб Уайт и Хайсекс Браун на 0,45 мл (5,9 %) больше, а от кросса Родонит-3 на 1,00 мл (13,1 %) больше в сравнении с результатами, полученными от кроссов Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный (таблица 6).

Таблица 6 – Сбор ВАЖ с 1 куриного эмбриона, мл/КЭ (2018 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь-февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее по году
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	8,90±0,12	8,30±0,04	8,90±0,16	8,62
		σ, мл	0,8	0,3	0,2	
		C _v , %	9,4	3,3	13,3	
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	7,70±0,13 ***	8,30±0,09	8,30±0,08 ***	8,07
		σ, мл	0,9	0,6	0,6	
		C _v , %	12,1	7,4	7,0	
3	БелЗОСП	Беларусь оричневый, Беларусь аутосексный	7,50±0,11 ***	7,70±0,16 ***	7,30±0,14 ***	7,62
		σ, мл	0,8	1,1	1,0	
		C _v , %	10,8	14,3	13,8	

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

Наибольший показатель сбора ВАЖ был достигнут в периоды декабрь-февраль и июнь-август при использовании кросса Родонит-3 (8,9 мл), в то время как от кроссов Декалб Уайт и Хайсекс Браун (8,3 мл) и Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный (7,7 мл) в марте-мае 2018 г. отклонение от минимального значения до максимального составило 4-5 %. В 2018 г. не наблюдалось четко выраженного влияния сезона года на объем сбора ВАЖ.

В 2019 г. от кроссов Беларусь аутосексный, Беларусь коричневый, Декалб Уайт и Хайсекс Браун от одного эмбриона получали в среднем 7,91 мл и 8,07 мл ВАЖ, а от кросса Родонит-3 – на 0,55 мл (6,8 %) больше (таблица 6).

Результаты проведенных в 2019 г. исследований влияния периода использования эмбрионов всех исследуемых кроссов показали, что максимальный показатель – в июне-августе (8,7-9,6 мл), а минимальный показатель выхода – в декабре-феврале (7,6-8,2 мл), что имеет обратную тенденцию в сравнении с результатами 2017-2018 годов.

Цифры, полученные методом статистической обработки данных по объему собираемой вирусосодержащей аллантаоисной жидкости в зависимости от разных кроссов кур в период проведения исследований 2016-2019 гг. и представленные в таблице 8, подтверждают достоверность ранее полученных результатов исследований.

Таблица 7 – Сбор ВАЖ от полученного от одного куриного эмбриона, мл/ КЭ (2019 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь-февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее по году
1	ФХ «Чайка»	Родонит 3	7,60±0,13	8,30±0,04	9,60±0,13	8,62
			σ, мл	0,9	0,3	0,9
			C _v , %	11,7	3,3	9,4
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	8,20±0,11 ***	8,50±0,10 ***	8,70±0,15 ***	8,07
			σ, мл	0,8	0,7	1,1
			C _v , %	9,6	8,1	12,3
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	7,70±0,13	7,90±0,16	8,10±0,13 ***	7,91
			σ, мл	0,9	1,1	0,9
			C _v , %	11,7	14,2	11,6

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

На основании результатов проведенного исследования отмечено, что в период 2016-2019 гг. объем извлекаемой ВАЖ был не одинаков, но оценивая пять кроссов (Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь аутосексный, Беларусь коричневый и Родонит-3), максимальный показатель сбора ВАЖ был полу-

чен при использовании куриных эмбрионов, полученных от отечественного кросса Родонит-3, от которого получали 8,30-8,62 мл от одного эмбриона, что выше показателей других кроссов (Декалб Уайт, Хайсекс Браун, Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый) на 25,8 % (рисунок 1).

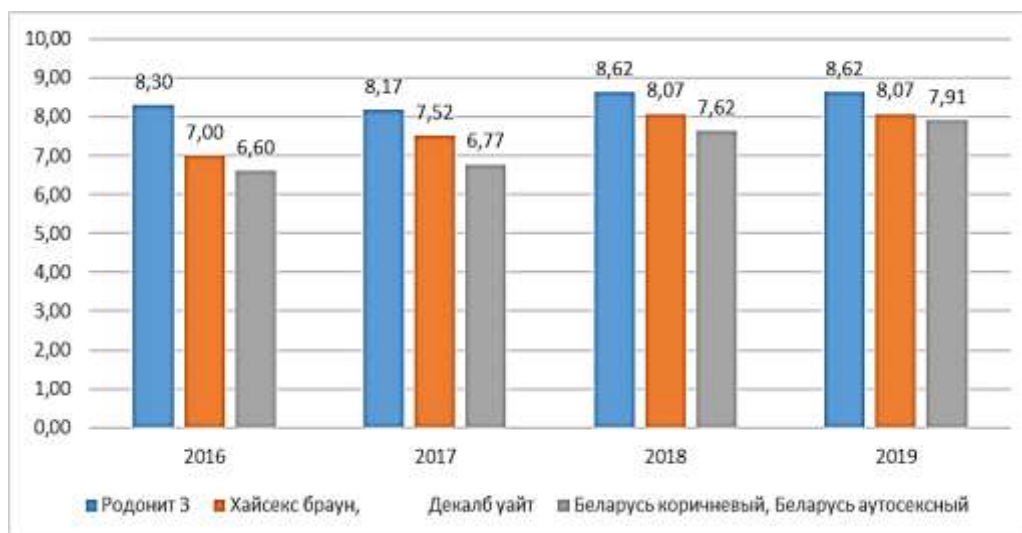


Рисунок 1 – Сбор ВАЖ от одного куриного эмбриона за период 2016-2019 гг.

Такая тенденция с годами сохранилась. Однако наблюдалось повышение выхода ВАЖ, чему причиной являлись более жесткие требования со стороны ООО «Форт» к поставке инкубационных яиц. В 2019 г. разница показателя извлекаемой ВАЖ между кроссами от одного куриного яйца сократилась до 4,6 %, что связано с более жестким соблюдением условий содержания кур-несушек и введением методики определения возраста эмбриона на основании исследования, проведенного в ООО «ФОРТ» в 2016-2017 годах.

На основании результатов исследования наблюдалось увеличение объема собираемой ВАЖ в период соответствующий возрасту птицы 361-450 дней.

Таблица 8 – Результаты исследований в 2016-2019 гг.

№	Исследуемый кросс	Год проведения эксперимента	Объем извлекаемой ВАЖ, мл, М±m
1	Родонит-3	2016	8,30
2	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	2016	7,0
3	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	2016	6,60
4	Родонит-3	2017	8,17
5	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	2017	7,52
6	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	2017	6,77
7	Родонит-3	2018	8,62
8	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	2018	8,07
9	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	2018	7,62
10	Родонит-3	2019	8,62
11	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	2019	8,07
12	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	2019	7,91

3.2.2 Оценка выхода гемагглютиниана в зависимости от использования эмбрионов, полученных от кур разных кроссов

Частица вируса гриппа похожа на шар диаметром 100 нм (хотя ученым известны и похожие на нити длиной 300 нм и больше). Внутренность такой сферы скрывает генетический материал в виде РНК – рибонуклеиновой кислоты. Когда именно эта РНК попадает в клетки человека, все клетки становятся цехом по выработке новых частиц вируса.

На поверхности шарообразной частицы вируса расположены шипы. Они построены из двух белков (гликопротеидов), которые называются гемагглютинин и нейраминидаз. Эти два белка жизненно необходимы вирусу – только с их помощью он способен закрепиться на поверхности здоровой клетки, чтобы ввести внутрь ее свой генетический материал.

Антитела против гемагглютинина не позволяют вирусу инфицировать клетки, а против нейраминидазы – не позволяют новым вирусным частицам покидать клетки. Гемагглютинин является наиболее привлекательным с точки зрения иммунной системы. Эта его особенность и положена в основу принципа действия противогриппозных вакцин.

Итак, в современных антигриппозных вакцинах именно гемагглютинин – тот основной компонент, который инициирует образование защитных антител. На сложной трехмерной структуре этого белка располагаются такие участки, которые очень важны с точки зрения профилактики гриппа, – так называемые антигенные домены. Когда антитела образуются, они блокируются именно этими участками и лишают вирус возможности входить в клетку. В процессе инкубации вируса гриппа в курином эмбрионе именно получение гемагглютинина является основной задачей при производстве противогриппозных вакцин посредством сбора вируссодержащей аллантоисной жидкости и последующей ее очистки от дебрисных белков.

В целях оценки показателей эффективности использования куриных эмбрионов при производстве противогриппозных вакцин необходимо рассмотреть показатели выхода целевого агента, гемагглютинина от стадии приемки эмбрионов до получения моновалента, где определяется количественный и качественный показатель по методу Орид. Способность эмбриона сохранять свои свойства является важным показателем, определяющим технологические потери в ходе процесса производства противогриппозной вакцины.

В ходе исследования, в период 2016-2019 гг., был проведен анализ получения гемагглютинина в процесс производства противогриппозных вакцин «Совигрипп», «Ультрикс» и «Ультрикс Квадри». Производилась оценка выхода (количественный показатель) по каждой поступившей партии, однородность исследования обусловлена соблюдением регламента производства противогриппозных вакцин.

В ходе исследования оценивался количественный показатель – объем выхода гемагглютинина (ГА), в мкг, получаемый в ходе производства моновалентов гриппозных вакцин на 1 куриный эмбрион.

В целях унификации исследований кроссы Декалб Уайт, Хайсекс Браун, а также Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый были объединены в общие группы.

Исследование включало в себя изучение куриных эмбрионов, получаемых от ФХ «Чайка» (Россия, Татарстан), 1-й Минской птицефабрики (Республика Беларусь), БелЗОСП (Республика Беларусь) в следующих количествах по годам: 2016 г. – 116 партий, 2017 г. – 147 партий, 2018 г. – 132 партии, 2019 г. – 210 партий. Объем одной партии 145-165 тыс. куриных эмбрионов. Объем исследуемых образцов – 90,75 млн куриных эмбрионов.

В 2016 г. выход по целевому показателю – количеству гемагглютинина от одного куриного эмбриона от кросса Родонит-3 – был на 76,1 % выше, чем при использовании кроссов Декалб Уайт и Хайсекс Браун (1-я Минская птицефабрика), и составил в среднем 23,2 мкг, а от кроссов Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый – 26,3 мкг (таблица 9).

Таблица 9 – Выход гемагглютинина (ГА) со стадии приемки куриных эмбрионов, мкг/КЭ (2016 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Выход ГА, мкг
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	40,00±0,29
		σ, мкг	2,1
		C _v , %	5,2
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	23,20±0,18***
		σ, мкг	1,3
		C _v , %	5,6
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	26,30±0,18***
		σ, мкг	1,3
		C _v , %	4,9

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

В 2017 г. выход по целевому показателю – количеству гемагглютинаина от одного эмбриона – от кроссов Декалб Уайт и Хайсекс Браун составил в среднем 44,0 мкг, от кроссов Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый – 44,7 мкг, а от кросса Родонит-3 – 37,1 мкг (таблица 10).

Анализируя периоды года, можно отметить, что в 2017 г. наиболее высокие выходы были достигнуты в марте-мае, а наиболее низкие – в июне-августе.

Таблица 10 – Выход гемагглютинаина (ГА) со стадии приемки куриных эмбрионов, мкг/КЭ (2017 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь-февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее по году
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	40,6±0,32	36,7±0,23	35,5±0,21	37,1
			σ, мкг	2,3	1,6	1,5
			C _v , %	5,7	4,4	4,2
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	30,7±0,22 ***	52,5±0,17 ***	31,8±0,19 ***	44,0
			σ, мкг	1,6	1,2	1,3
			C _v , %	5,1	2,3	4,3
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	41,7±0,19 ***	58,5±0,24 ***	27,3±0,20 ***	44,7
			σ, мкг	1,4	1,7	1,4
			C _v , %	3,3	2,9	5,1

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

В 2018 г. выход количества гемагглютинаина от одного эмбриона от кросса Родонит-3 составил 45,7 мкг, от кроссов Декалб Уайт и Хайсекс Браун (1-я Минская птицефабрика) – в среднем 43,2 мкг, от кроссов Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый составил 38,9 мкг (таблица 11).

Таблица 11 – Выход гемагглютина (ГА) со стадии приемки куриных эмбрионов, мкг/КЭ (2018 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь-февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее по году
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	38,90±0,25	44,40±0,41	56,90±0,33	45,70
			σ, мкг	1,75	2,9	2,3
			C _v , %	4,5	6,5	4,0
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	32,30±0,28 ***	45,60±0,36 ***	60,90±0,34 ***	43,20
			σ, мкг	2,0	2,5	2,4
			C _v , %	6,1	5,4	3,9
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	30,40±0,28 ***	38,30±0,28 ***	45,40±0,38 ***	38,90
			σ, мкг	2,0	2,0	2,7
			C _v , %	6,4	5,1	5,9

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

Выход гемагглютина по сезонам года в сравнении с 2017 г. показал, что наиболее высокие показатели выхода были достигнуты в июне-августе (45,4-60,9 мкг), а наиболее низкие – в декабре-феврале (30,4-38,9 мкг).

В 2019 г. выход количества гемагглютина от одного куриного эмбриона кроссов Декалб Уайт и Хайсекс Браун, Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый составил 63,4 мкг и 56,2 мкг соответственно, в то время как при использовании эмбрионов от кросса Родонит-3 выход ГА составил 70,2 мкг (таблица 12).

Таблица 12 – Выход гемагглютинаина (ГА) со стадии приемки куриных эмбрионов, мкг/КЭ (2019 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь-февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее по году
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	50,2±0,30	79,7±0,54	70,7±0,49	70,20
			σ, мкг	2,1	3,8	3,4
			C _v , %	4,2	4,8	4,9
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	47,7±0,43 ***	71,2±0,38 ***	68,0±0,46 ***	63,40
			σ, мкг	3,1	2,7	3,3
			C _v , %	6,4	3,8	4,8
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь ауто-сексный	43,2±0,35 ***	61,3±0,44 ***	59,2±0,99 ***	56,20
			σ, мкг	2,5	3,1	7,0
			C _v , %	5,7	5,1	11,8

Примечание. * $t_{sd} \leq 0,05$, ** $t_{sd} \leq 0,01$, *** $t_{sd} \leq 0,001$

Анализ выхода количества ГА по сезонам показал, что наиболее низкий выход целевого агента был достигнут в декабре-феврале (30,4-38,9 мкг), а наиболее высокий – в марте-мае (71,2-79,7 мкг).

Обработка данных исследований методом вариационной статистики по показателю выхода гемагглютинаина в период проведения исследований 2016-2019 гг. представлена в таблице 13, на рисунке 2. Результаты исследований подтверждают достоверность исследований.

Таблица 13 – Результаты исследований, 2016-2019 гг.

№	Исследуемый кросс	Год проведения эксперимента	Выход гемагглютинаина, мкг.
1	Родонит-3	2016	41,0
2	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	2016	23,2
3	Беларусь коричневый, Беларусь аутоксексный	2016	26,3
4	Родонит-3	2017	37,1
5	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	2017	44,0
6	Беларусь коричневый, Беларусь аутоксексный	2017	44,7
7	Родонит-3	2018	45,7
8	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	2018	43,2
9	Беларусь коричневый, Беларусь аутоксексный	2018	38,9
10	Родонит-3	2019	70,2
11	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	2019	63,4
12	Беларусь коричневый, Беларусь аутоксексный	2019	56,2



Рисунок 2 – Выход по целевому белку (ГА) со стадии приемки куриных эмбрионов (КЭ), мкг/КЭ

На основании данных исследований, определяющих зависимость выхода гемагглютинаина от использования яичных кур разных кроссов, можно

сделать вывод, что кросс Родонит-3 более перспективен, чем другие изучаемые кроссы, что подтверждается данными с 2016 по 2019 год.

В ходе исследования не удалось выявить зависимость выхода гемагглютинаина от периода использования эмбрионов, что позволяет сделать вывод о том, что возраст птицы не влияет на объем получаемого субстрата. Объем получаемого гемагглютинаина зависит от ростовых свойств типа вируса, используемого при производстве противогриппозных вакцин разных методов очистки.

3.2.3 Оценка технологических потерь куриных эмбрионов в зависимости от использования эмбрионов, полученных от кур разных кроссов при производстве противогриппозных вакцин

Показатель технологических потерь куриных эмбрионов на разных стадиях при производстве противогриппозных вакцин является существенно важным и подвергается оценке, в том числе оцениваются и факторы, влияющие на его образование.

Причинами образования потерь являются: потери при транспортировке, гибель эмбрионов на стадии инокуляции и инкубирования вируса гриппа ввиду замедления или полной остановки жизнедеятельности куриного эмбриона, получившего иммунобиологическую нагрузку в ходе процесса производства вакцин. В соответствии с технологией производства противогриппозных вакцин потери куриных эмбрионов составляют не более 15 %: при транспортировке до 1 %; при подготовке эмбриона к инокуляции до 4 %; при инкубировании вируса гриппа до 10 %.

В исследовании рассматривался показатель – доля общего брака от объема поставленной партии. Доля потерь – выделенные на стадии приемки, неиспользуемые куриные эмбрионы (оценка целостности, жизнеспособности на стадии овоскопирования 1) и на втором овоскопировании, выполненном после инкубирования вируса гриппа.

В рамках работы оценивалась величина технологических потерь в зависимости от сезона производства: декабрь-февраль, март-май, июнь-август, что, в свою очередь, соотносится с изменением внешних температурных параметров и возраста поголовья.

В целях унификации исследований кроссы Декалб Уайт и Хайсекс Браун, а также Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый были объединены в общие группы.

Исследование включало в себя изучение куриных эмбрионов, получаемых от кур, принадлежащих ФХ «Чайка» (Россия, Татарстан), 1-й Минской птицефабрики (Республика Беларусь), БелЗОСП (Республика Беларусь) в количествах: 2016 г. – 116 партий, 2017 г. – 147 партий, 2018 г. – 132 партии, 2019 г. – 210 партий. Общий объем партии 145-165 тыс. куриных эмбрионов. Объем исследуемых образцов – 90,75 млн куриных эмбрионов.

Результаты исследований 2016 г. показали, что наименьший объем технологических потерь достигнут при использовании куриных эмбрионов, полученных от кросса Родонит-3 (7,9 %), что в 2,4 раза меньше, чем при использовании куриных эмбрионов от кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый – 19,3 % и 19,1 % соответственно (таблица 14).

Таблица 14 – Совокупный брак куриных эмбрионов, % (2016 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Технологические потери, %
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	7,9
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	19,3
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	19,1

Основной причиной высокого показателя брака при использовании куриных эмбрионов в птицеводческих хозяйствах – 1-я Минская птицефабрика (Республика Беларусь), БелЗОСП (Республика Беларусь) – явилось несоблю-

дение условий транспортировки, не обеспечившее достаточного притока кислорода и, как следствие, вызвавшее нарушения аэробных процессов, послуживших причинами ослабления жизнедеятельности эмбрионов.

Результаты исследований 2017 г. показали, что наименьший объем технологических потерь достигнут при использовании эмбрионов, полученных от кросса Родонит-3 (10,0 %), что на 26 % и 43 % меньше, чем при использовании эмбрионов от кроссов Декалб Уайт, Хайсекс Браун, Беларусь ауто-сексный и Беларусь коричневый – 12,6 % и 14,3 % соответственно (таблица 15).

Исследуя периоды применения куриных эмбрионов, выявлено, что наименьшие показатели технологических потерь наблюдаются в период март-май.

Таблица 15 – Совокупный брак куриных эмбрионов для производства вакцин, % (2017 г.)

Технологические потери, %						
№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь - февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее за год
1	ФХ «Чайка»	Родонит 3	9,90	9,60	10,70	10,00
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	15,10	11,60	14,00	12,60
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь ауто-сексный	17,90	13,60	14,60	14,30

Результаты исследований в 2018 году показали, что наименьший объем технологических потерь достигнут при использовании куриных эмбрионов, полученных от кросса Родонит-3 (8,6 %), что на 27 % и 36 % меньше, чем при использовании куриных эмбрионов от кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь коричневый и Беларусь ауто-сексный – 12,7 % и 13,6 % соответственно (таблица 16).

Таблица – 16 Совокупный брак куриных эмбрионов, % (2018 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь-февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее по году
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	7,5	8,9	9,2	8,6
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	14,5	11,5	11,5	12,7
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	13,3	13,5	14,0	13,6

Исследуя периоды применения куриных эмбрионов в 2018 г., наименьшие показатели технологических потерь при их использовании выявлены в период март-май.

Результаты исследований 2019 г. показали, что наименьший объем технологических потерь достигнут при использовании куриных эмбрионов, полученных от кросса Родонит-3 (9,4 %), что на 21 % и 34 % меньше, чем при использовании куриных эмбрионов от кроссов Декалб Уайт, Хайсекс Браун, Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый – 12,1 % и 13,4 % соответственно (таблица 17).

Исследуя периоды применения куриных эмбрионов в 2019 г., наименьшие показатели технологических потерь при их использовании выявлены в период март-май.

Таблица 17 – Совокупный брак куриных эмбрионов, % (2019 г.)

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Декабрь-февраль	Март-май	Июнь-август	Среднее по году
1	ФХ «Чайка»	Родонит-3	9,7	7,5	9,4	8,6
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	13,4	10,8	12,4	12,1
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный	13,3	12,5	13,5	13,4

На основании данных проведенного исследования можно отметить, что наименьшие технологические потери были достигнуты при использовании куриных эмбрионов кросса Родонит-3, полученных от кур принадлежащих ФХ «Чайка» (Россия, Татарстан). За период исследования объем совокупных потерь не превышал 10 %. Использование кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный позволяет достичь показателей потерь, соответствующих регламентированным нормам производства противогриппозных вакцин, при этом объем потерь больше, чем при использовании куриных эмбрионов кросса Родонит-3, на 21-26 % и 31-43 % соответственно.

На основании данных исследования выявлено снижение технологических потерь, которые вероятнее всего связаны с изменением рационов кормления поголовья и схем вакцинации молодняка, применяемых хозяйствами (рисунок 3).

Исследуя зависимость технологических потерь от применения эмбрионов в разные периоды использования, было отмечено, что наименьший объем технологических потерь достигался в период июнь-август, что соответствует возрасту птицы 270-370 суток.

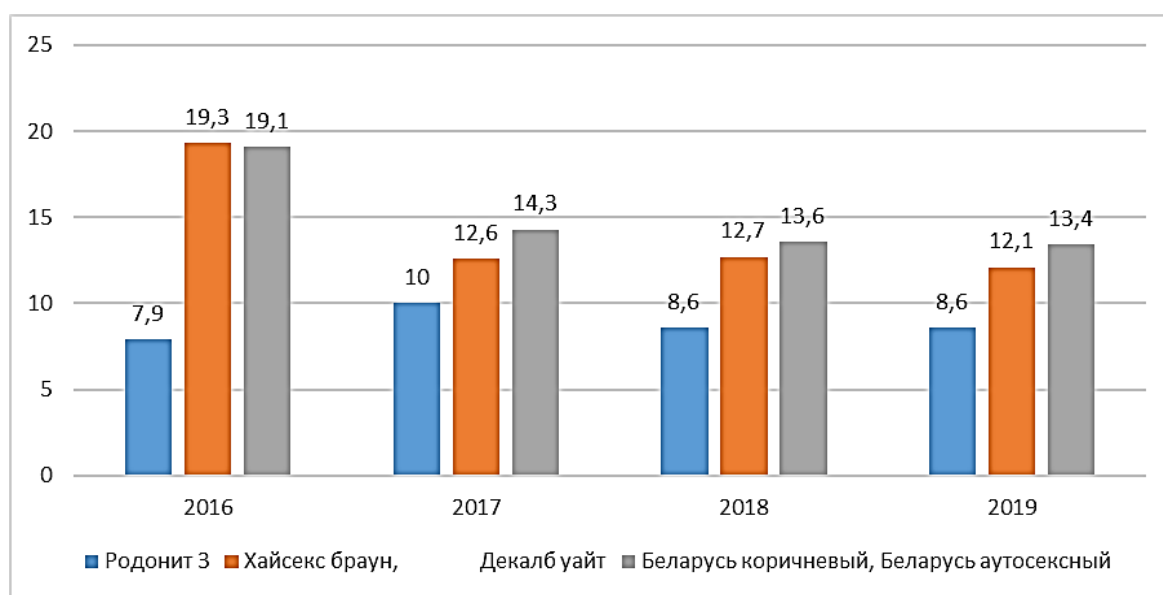


Рисунок 3 – Совокупные технологические потери куриных эмбрионов, %

На основании проведенных исследований можно отметить, что использование эмбрионов, полученных от родительских форм Родонит-3, является предпочтительным ввиду наиболее оптимальных показателей при их использовании, а именно: сбор вирусодержащей аллантоисной жидкости в объеме до 8,62 мл с одного КЭ; получение антигена (гемагглютинина) до 70,2 мкг с одного КЭ; низкий показатель технологических потерь – до 10 % от объема поставляемой партии в сравнении с использованием куриных эмбрионов от кроссов Декалб Уайт, Хайсекс Браун, Беларусь коричневый и Беларусь ауто-сексный.

Исследование показало, что возраст поголовья птицы является фактором, влияющим на показатели объема извлекаемой аллантоисной жидкости (371-450 дней) и потерь, получаемых в ходе производства вакцин (271-360 дней).

3.3 Оценка рационов питания и схем вакцинации поголовья, используемых для производства куриных эмбрионов

3.3.1 Оценка рационов питания, применяемых на птицеводческих предприятиях, осуществляющих производство куриных эмбрионов для использования в производстве противогриппозных вакцин

В период исследований птицеводческие хозяйства осуществляли работу по подбору рационов питания и схем вакцинации поголовья птицы в целях совершенствования производства и сокращения доли технологических потерь при производстве противогриппозных вакцин и обеспечения биобезопасности птицеводческих хозяйств.

Изменение рационов питания и схем вакцинации осуществлялась на основании рекомендаций селекционных центров и сотрудников биофармацевтической компании ООО «ФОРТ» посредством предоставления опера-

тивной информации по показателю брака и особенностям технологических процессов.

А также исследований, направленных на внедрение в практику птицеводства инновационные приемы повышения яйценоскости кур. Одним из немаловажных вопросов для успешного птицеводства является микроклимат на птицефабрике. Благодаря научно-технической революции сегодня можно создать максимально комфортные условия содержания птицы. Другим важным вопросом на производстве является оптимизация и рационализация кормления птицы. Для этого необходимо своевременно составлять рацион кормления, качественно его сбалансировать по всем показателям с помощью усовершенствованных специализированных программных комплексов. Для повышения яйценоскости кур-несушек в мировой практике используются, в основном, следующие методы: зоотехнический (режим кормления, голодание, поение, световой режим – с помощью изменения этих факторов на птицефабрике применяют принудительную линьку кур-несушек, т.к. для птицы создают стрессовые условия содержания).

Одним из важных показателей является обменная энергия, позволяющая обеспечивать оптимальный обмен веществ и усвоение питательных элементов в целях обеспечения эффективного онтогенеза куриных эмбрионов, применяемых при производстве противогриппозных вакцин. При этом в целях достижения стабильного развития эмбриона и обеспечения жизнеспособности при получении иммунобиологической нагрузки важным фактором является аминокислотный состав корма, обеспечивающий протеиновое питание поголовья.

Необходимо отметить, что эффективность питания связана с генетическими особенностями пород и кроссов птиц и может незначительно отличаться.

В ходе исследования, был проведен анализ рационов питания поголовья родительских форм кроссов, применяемых для производства куриных эмбрионов, используемых в производстве противогриппозных вакцин «Совигрипп», «Ультрикс» и «Ультрикс Квадри».

В ходе исследования оценивался компонентный состав рациона, уровень обменной энергии (Ккал/100 г) и содержание сырого протеина (%).

В целях унификации исследований кроссы Хайсекс Браун и Декалб Уайт, а также Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный были объединены в общие группы.

Исследование включало в себя изучение рационов питания поголовья, используемого при производстве куриных эмбрионов, получаемых от ФХ «Чайка» (Россия, Татарстан) – Родонит-3; 1-й Минской птицефабрики (Республика Беларусь) – Хайсекс Браун, Декалб Уайт; БелЗОСП (Республика Беларусь) – Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный.

Необходимо отметить, что в ходе исследования производилась оценка зависимости технологических потерь, образовавшихся в процессе производства противогриппозных вакцин, от качественных показателей рационов питания.

В таблице 18 представлен компонентный состав корма, применяемого для кормления поголовья родительских форм кросса Родонит-3 в 2016-2019 гг.

Таблица 18 – Компоненты комбикормов для кросса Родонит-3, 2016-2019 гг.

№	Компонент	2016	2017	2018	2019
1	Пшеница	+	+	+	+
2	Шрот соевый СП 44	+	+	+	+
3	Жмых подсолнечный СП 26 %, СК 22%	+			
4	Шрот подсолнечный СП 38 %, СК 19%	+			
5	Мука рыбная СП 59 %	+	+	+	+
6	Масло подсолнечное	+	+	+	+
7	Соль поваренная	+	+	+	+
№	Компонент	2016	2017	2018	2019
8	Монокальций фосфат	+	+	+	+
9	Мел кормовой	+	-	-	-
10	Известняковая мука	+	+	+	+
11	Сода пищевая		+	+	+
12	Кукурузный глютен СП 62 %		+	+	+
13	БВД ЭРА 1 (LC-209) для кур несушек	+			
14	«МегаМикс» 439-1 П 20-40 2 %		+	+	+

В таблице 19 представлен компонентный состав рациона, применяемого для кормления поголовья родительских форм кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт в 2016-2019 гг.

Таблица 19 – Компоненты комбикормов для кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт, 2016-2019 гг.

№	Компонент	2016	2017	2018	2019
1	Кукуруза фуражная	+		+	+
2	Пшеница фуражная	+	+	+	+
3	Тритикале фуражный	+	+	+	+
4	Ячмень фуражный	+	+	+	+
5	Шрот соевый СП 46 %	+	+	+	+
6	Шрот подсолнечный СП 34,7-38 %	+	+	+	+
7	Масло рапсовое	+	+	+	+
8	L-лизин монохлоргидрад	+	+	+	+
9	Мел Кормовой	+	+		
10	Монокальций фосфат	+	+	+	+
11	Соль поваренная	+	+	+	+
12	Отсев каменный	+			
13	Финдос Эдванс	+			
14	Д-П-1-1	+			
15	Витазим	+			
№	Компонент	2016	2017	2018	2019
16	Известняковая мука		+	+	+
17	Сульфат натрия Е 514		+		
18	DL-метионин		+		
19	П1-2 промышленных кур-несушек		+		
20	Овес			+	+
21	Родимент АТ88			+	+
22	ПА-П-1-1 (07001-0103) без В4			+	+
23	Сервобак жидкий			+	+
24	Витамин В4 60 % (холин хлорид)			+	+

Таблица 20 – Компоненты комбикормов для кроссов Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный, 2016-2019 гг.

№	Компонент	2016	2017	2018	2019
1	Пшеница	+	+	+	+
2	Кукуруза	+	+	+	+
3	Овес	+	+		+
4	Известняковая мука	+	+	+	+
5	Шрот подсолнечный СП 35-38 %	+	+	+	+
6	Шрот соевый СП 44-46 %	+	+		+
7	Мука мясокостная	+	+	+	
8	Масло подсолнечное	+	+		
9	Дрожжи кормовые СП 41-47 %		+		
10	Монокальций фосфат	+	+	+	+
11	Сульфат лизина	+	+		
12	Родимент АТ88		+		
13	Сервобак жидкий		+		
14	L-треонин 98 %	+	+		+
№	Компонент	2016	2017	2018	2019
15	Сода пищевая Натрий серноокислый	+	+		+
16	Витамин В4 60 % (холин хлорид)		+		+
17	Масло рапсовое			+	
18	Масло соевое				+
19	ПА-П-1-1 (07001-0103) без В4			+	+
20	Сульфат лизина			+	+
21	Ячмень			+	
22	Тритикале фуражный	+		+	+
23	Отруби пшеничные			+	
24	Соль поваренная	+	+	+	+
25	Витамин В4 60 % (холин хлорид)			+	+
26	Эсцент				+
27	Сульфат натрия природный				+
28	DL-метионин			+	+

Основным изменением рациона питания в период 2016-2019 гг. являлся подбор витаминной и аминокислотной составляющей рациона, ориентированного на повышение жизнеспособности эмбриона при получении иммунобиологической нагрузки при инокуляции и ингибировании вируса гриппа для производства противогриппозных вакцин.

Сравнительный анализ характеристик рационов питания, учитывающий показатель обменной энергии и процентное содержание сырого протеина, представлен в таблице 21.

Таблица 21 – Сравнительный анализ характеристик комбикормов

№	Наименование птицеводческого хозяйства	Кросс кур	Содержание компонента	2016	2017	2018	2019
1	ФХ «Чайка»	Родонит 3	обменная энергия, Ккал/100 г	274	272	282	282
			сырой протеин, %	17,7	17,4	17,6	17,6
2	1-я Минская птицефабрика	Хайсекс Браун, Декалб Уайт	обменная энергия, Ккал/100 г	262,2 7	272	282	283
			сырой протеин, %	16,6	15,2 1	16,1 2	16,1 2
3	БелЗОСП	Беларусь коричневый, Беларусь аутосекс-ный	обменная энергия, Ккал/100 г	254	264, 7	272	273
			сырой протеин, %	17,2	15,1 9	15,2 7	15,3

На основании исследуемых данных, а также данных, представленных в разделе 3.3, можно сделать вывод, что изменение показателя «обменная энергия» (увеличение на 10-15 %) способствует снижению технологических потерь куриных эмбрионов при производстве противогриппозных вакцин. Повышение обменной энергии с 272 до 282 Ккал/100 г позволило снизить

объем технологических потерь с 10 % до 8,6 %, что составляет 14 % при производстве куриных эмбрионов кросса Родонит-3.

При производстве куриных эмбрионов кроссов Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный повышение обменной энергии с 254 до 273 Ккал/100 г позволило снизить объем технологических потерь с 14,3 % до 13,4 %, что составило 8 %.

Также отметим, что более низкое содержание в рационах питания сырого протеина для кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный на уровне – на 15-16 % в сравнении с рационом, применяемым для кросса Родонит-3 – 17 % (ниже на 10 %) – является одним из факторов, не позволившим снизить величину технологических потерь до уровня 9-10 %, а также достичь объема собираемой ВАЖ до уровня 8,5 мл с одного эмбриона ниже на 4,6 % в сравнении с показателями, получаемыми при использовании кросса Родонит-3.

3.3.2 Оценка схем вакцинации, применяемых на птицеводческих предприятиях, осуществляемых производство куриных эмбрионов для использования в производстве противогриппозных вакцин

Вакцинопрофилактика играет важную роль в обеспечении благополучия птицеводческого хозяйства, особенно при производстве иммунобиологических препаратов, применяемых для вакцинации взрослого и детского населения.

В настоящее время разработан комплекс профилактических мер, обеспечивающих защиту поголовья кур как на раннем этапе жизни птицы, так и в активной фазе использования.

В ходе исследования, в период 2016-2019 гг., был проведен анализ схем вакцинации поголовья родительских форм кроссов, применяемых для производства куриных эмбрионов, используемых в производстве противогриппозных вакцин «Совигрипп», «Ультрикс» и «Ультрикс Квадри».

В ходе исследования оценивался состав схемы вакцинации и сроки применения в соответствии со сроком жизни молодняка.

В целях унификации исследований кроссы Хайсекс Браун и Декалб Уайт, Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный были объединены в общие группы.

Исследование включало в себя изучение рационов питания поголовья кур, используемых при производстве куриных эмбрионов, получаемых от ФХ «Чайка» (Россия, Татарстан) – кросса Родонит-3; 1-й Минской птицефабрики (Республика Беларусь) – кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт; БелЗОСП (Республика Беларусь) – кроссов Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный.

В таблице 22 представлена схема вакцинации, применявшаяся для иммунопрофилактики поголовья родительских форм кросса Родонит-3 в 2016-2019 гг.

Таблица 22 – Схема вакцинации. Кросс Родонит-3

Профилактика					
№	Возраст птицы	2016	2017	2018	2019
1	1	Б. Марека	Б. Марека	Б. Марека, ИБК, НБ	Б. Марека, ИБК, НБ,
2	12	ИББ	ИББ		
3	14			ИБК	ИБК, НБ
4	18			ИББ	
5	19	НБ+ИБК	НБ+ИБК		
6	23				ИББ
7	24	ИББ	ИББ	НБ	
8	28			ИББ	ИББ
9	29				Антибиотикотерапия
10	39	НБ+ИБК	НБ+ИБК		
№	Возраст птицы	2016	2017	2018	2019
11	42				ИБК
12	44			ИБК	
13	54			НБ	
14	56				НБ
15	59				Антибиотикотерапия
16	68	НБ+ИБК	НБ+ИБК		
17	70				ИБК
18	74			ИБК	
19	75				ИЭК
20	84			НБ	НБ
21	92				Антибиотикотерапия
22	105	ССЯ, НБ, ИБК	ССЯ, НБ, ИБК		ССЯ, НБ, ИБК, ИББ

В таблице 23 представлена схема вакцинации, применявшаяся для иммунопрофилактики поголовья родительских форм кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт в 2016-2019 гг.

В таблице 24 представлена схема вакцинации, применявшаяся для иммунопрофилактики поголовья родительских форм кроссов Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный в 2016-2019 гг.

Таблица 23 – Схема вакцинации. Кроссы Хайсекс Браун, Декалб Уайт

Профилактика					
№	Возраст птицы	2016	2017	2018	2019
1	1	Б. Марека, ИБК	Б. Марека, ИБК	Б. Марека, ИБК	Б. Марека, ИБК
2	2	Антибиотико- терапия	Антибиотико- терапия	Антибиотико- терапия	Антибиотико- терапия
3	10	ИБК	ИБК	ИБК	ИБК
4	12	ИББ	ИББ	ИББ	ИББ
5	15	ИБ	ИБ	ИБ	ИБ
6	22	ИБ	ИББ	ИББ	ИББ
7	26	ИБК	ИБК	ИБК	ИБК
8	30	ИРТ	ИРТ	ИРТ	
9	33				НБ
10	36	Антибиотико- терапия	Антибиотико- терапия	Антибиотико- терапия	
11	37				ИРТ
12	40	ИЛТ	ИЛТ	ИЛТ	ИЛТ
13	45	ИБ	ИБ	ИБ	
14	55	ИБК	ИБК	ИБК	
15	60				ИБ
16	62				ИБК
17	64	ИРТ	ИРТ	ИРТ	
18	65				ИАЦ
19	68	ИБК	ИБК	ИБК	ИБК
20	70	ИБ	ИБ	ИБ	
21	72	Оспа+ИЛТ	Оспа+ИЛТ	Оспа+ИЛТ	
22	75	ИАЦ	ИАЦ	ИАЦ	ИРТ
№	Возраст птицы	2016	2017	2018	2019
23	80	ИЭЦ	ИЭЦ	ИЭЦ	ИЭЦ
24	85	ИБК	ИБК	ИБК	
25	89				ИБК
26	90				ИБ
27	105	НБ, ИБК, ИББ, ССЯ, РЭО, РМ	НБ, ИБК, ИББ, ССЯ, РЭО, РМ	НБ, ИБК, ИББ, ССЯ, РЭО, РМ	
28	110				НБ, ИБК, ИББ, ССЯ, РЭО, РМ

Таблица 24 – Схема вакцинации. Кроссы Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный

Профилактика					
№	Возраст птицы	2016 г	2017 г	2018 г	2019 г
1	2	3	4	5	6
1	1		Б. Марека, ИБК, ИБ	Б. Марека, ИБК, ИБ	Б. Марека, ИБК, ИБ
2	5	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия
3	10	ИБК	ИБК	ИБК	ИБК
4	15				ИБ
5	16	ИББ	ИББ		
6	18	ИБ	ИБ	ИБ	
7	22			ИББ	ИББ
8	27	ИРТ	ИРТ	ИРТ	
9	30	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия	ИРТ
№	Возраст птицы	2016	2017	2018	2019
10	33				Антибиотикотерапия
11	36	ИБК	ИБК		
12	37				ИБК
13	40	ИРТ	ИРТ	ИРТ	ИРТ
14	50	ИБ	ИБ	ИБ	ИБ
15	55	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия
16	60	Оспа	Оспа	Оспа	
17	62				Оспа
18	68	ИБК	ИБК	ИБК	ИБК
19	75	ИРТ	ИРТ	ИРТ	ИРТ
20	80	ИБ	ИБ	ИБ	ИБ
21	85	ИЭЦ	ИЭЦ	ИЭЦ	ИЭЦ
22	90			ИБК	
23	92				ИБК
24	95			Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия
25	100				ИЛТ
26	105	Антибиотикотерапия	Антибиотикотерапия		

Окончание таблицы 24

1	2	3	4	5	6
27	110	НБ, ИРТ, ИБК, БН, ССЯ РМ	НБ, ИРТ, ИБК, БН, ССЯ РМ	НБ, ИРТ, ИБК, БН, ССЯ РМ	
28	115				ИРТ, БН, ИБК, ИББ, РМ, ССЯ
№	Возраст птицы	2016	2017	2018	2019
29	125				Антибиотико- терапия
30	131				ССЯ

На основании данных, представленных в таблицах 18, 19, 20, можно отметить, что схемы вакцинации при производстве куриных эмбрионов для производства противогриппозных вакцин в период 2016-2019 гг. имели незначительное отличие. Но, необходимо отметить, что существенным изменением являлся факт применения антибиотикотерапевтических препаратов – для кросса Родонит-3 в 2019 г., для кроссов Беларусь коричневый и Беларусь аутосексный – в 2018 году. Это было связано с увеличением поголовья птицы более чем на 30 % и минимизацией риска появления инфекций в процессе роста молодого поголовья птицы.

Результат исследования показал, что применяемые схемы вакцинации в период 2016-2019 гг. обеспечили соблюдение требований по благополучию содержания поголовья.

Также необходимо отметить, что применяемая на птицеводческом предприятии ФХ «Чайка» (кросс Родонит-3) схема вакцинации является наиболее оптимальной.

3.4 Экономическая оценка результатов исследований

Результаты проведенных исследований имеют четко выраженный экономический эффект, отражающий стоимость получения одного мкг гемагглютинина (таблица 25).

При расчете стоимости учитывали показатели выхода гемагглютинина от одного куриного эмбриона, стоимость закупки одного эмбриона, а также величину технологических потерь, определенных на всех стадиях использования куриных эмбрионов при учете эмбрионов каждого кросса.

При этом необходимо учесть тот факт, что ООО «ФОРТ» удалось с 2017 года установить единый принцип формирования закупочных цен, при этом увеличение стоимости закупки определялось экономическими факторами, влияющими на формирование инфляционной составляющей.

Таблица 25 – Экономическая оценка стоимости производства 1 мкг гемагглютинина (ГА)

Поставщик	Кросс	Кол-во, млн	Цена, руб./ед.	Технологические потери, %	Выход мкг/К Э	Себестоимость 1 мкг ГА, руб.
1	2	3	4	5	6	7
2016 г.						
ФХ «Чайка»	Родонит-3	2,08 6	10,4	7,90	41	0,27
БелЗОСП	Беларусь коричневый	4,14 8	12,35	19,10	26,3	0,56
1-я Минская ПЦФ	Хайсекс Браун	6,26 7	12,35	19,30	23,2	0,64
2017 г.						
ФХ «Чайка»	Родонит-3	7,55 4	11	10	37,1	0,33
БелЗОСП	Беларусь коричневый	2,34	11,2	14,30	44,7	0,29
1-я Минская ПЦФ	Хайсекс Браун	4,32	11,2	13	44	0,29

Окончание таблицы 25

1	2	3	4	5	6	7
2018 г.						
ФХ «Чай-ка»	Родонит-3	10,83 3	11	8,60	45,7	0,26
БелЗОСП	Беларусь коричне- вый	3,574	11,2	13,60	38,9	0,33
Постав- щик	Кросс	Кол- во, млн	Цена, руб./ед .	Техно- ло- гические потери, %	Выход мкг/К Э	Себестои- мость 1 мкг ГА, руб.
1-я Мин- ская ПЦФ	Хайсекс Браун	4,72	11,2	12,70	43,2	0,29
2019 г.						
ФХ «Чай-ка»	Родонит-3	11,34 2	11,8	8,60	70,2	0,18
БелЗОСП	Беларусь коричне- вый	3,24	11,4	13,50	56,2	0,23
1-я Мин- ская ПЦФ	Хайсекс Браун	12,32	11,4	12,10	63,4	0,20

В результате исследований определено снижение себестоимости 1 мкг основного сырья для производства противогриппозной вакцины (ФХ «Чай-ка») с 0,27 руб. в 2016 г. до 0,18 руб. в 2019 г., и (1-я Минская ПЦФ) с 0,56 руб. до 0,20 руб. что составляет 31 % и 65 % соответственно. При этом наблюдается выравнивание средней стоимости 1 мкг гемагглютинина до уровня 0,18-0,23 руб. за 1 мкг. Разница сопоставима с разницей объема технологических потерь при использовании эмбрионов разных кроссов яичных кур и составляет 10 % при сравнении использовании кросса Родонит-3 и Хайсекс Браун, Декалб Уайт; и 22 % в сравнении с использованием кроссов Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

Снижение себестоимости производства в существенной степени может оказать влияние на доступность противогриппозных препаратов. Так, затраты на производство субстанции для одной дозы трехвалентной вакцины, со-

держащей 45 мкг гемагглютинаина, может составить не более 8,1 руб., а для производства четырехвалентной вакцины «Ультрикс Квадри», содержащей 60 мкг гемагглютинаина, – не более 10,8 руб. соответственно.

Необходимо отметить, что цена одного куриного эмбриона определяется производителями исходя из конъюнктуры сложившегося рынка на каждый конкретный год.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальность разработки вакцин против гриппа представлена в официальных документах, обнародованных Всемирной организацией здравоохранения, документах Минздрава России и других.

В соответствии с утвержденной стратегией развития иммунопрофилактики инфекционных болезней на период до 2035 г. (Распоряжение Правительства РФ от 18.09.2020 № 23900) планируется осуществить максимальное применение (не менее 51 % населения) четырехвалентных противогриппозных вакцин, соответствующих требованиям ВОЗ. Реализации данной стратегии потребует в период с 2020 по 2035 г. увеличения производства гемагглютинина более чем в 2,5 раза до уровня 5 000 г в год [76].

При этом в современном птицеводстве отсутствуют рекомендации по структуре птицеводческих хозяйств, содержанию птицы, технологии инкубации яиц и доставки куриных эмбрионов до биофармацевтических предприятий, необходимых для культивирования вируса гриппа и выделения антигена для производства вакцин.

Научные исследования осуществлялись по оценке куриных эмбрионах, полученных от разных кроссов яичных кур: Родонит-3, Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

Объектами исследований является куриные эмбрионы, используемые при производстве противогриппозных вакцин в качестве биологической системы культивирования вируса гриппа. Исследования проведены в период с марта 2016 г. по ноябрь 2019 г. в ходе производственного процесса изготовления противогриппозных вакцин различных сезонов 2016-2017 годов.

Работа включает в себя несколько исследований. В первом исследовании производилась оценка технологии производства противогриппозных вакцин и факторов, влияющих в зависимости от степени развития эмбриона.

Во втором исследовании проведен анализ таких показателей, как сбор вирусосодержащей аллантоисной жидкости, объем получения гемагглютина и объем технологических потерь при производстве противогриппозных инактивированных вакцин в зависимости от кросса яичных пород кур.

В ходе заключительного исследования проводилась оценка влияния кормления и схем вакцинации молодняка.

При определении наиболее оптимальных параметров использования куриных эмбрионов на производственном комплексе ООО «Форт» проведены исследования, уточняющие массу куриных эмбрионов, получаемых на разных сроках развития и возможности его эффективного использования в процессе производства противогриппозных вакцин. Наиболее высокий выход гемагглютина наблюдается при использовании эмбрионов, достигших массы 2,0...2,5 г и 2,5...3,0 (не лучше ли 2,0...3,0) г – до 70 % при производстве противогриппозной вакцины по сравнению с другими группами (указать) (коэффициент изменчивости (C_v %) 0,61 % и 0,56 %), что достоверно выше при $P < 0,001$.

Полученные результаты исследования эмбрионов кроссов Родонит-3 и Хайсекс Браун позволили определить наиболее приемлемые параметры для использования в производстве противогриппозных вакцин, а именно: эмбрионы, достигшие массы 2,...2,5 г и эмбрионы, достигшие массы 2,5,,,3,0 г. Результаты исследований позволили осуществить корректировку технологического процесса производства противогриппозных вакцин, что позволило более чем на 20 % увеличить средний выход вирусосодержащей аллантоисной жидкости и осуществить полномасштабное внедрение методов очистки по типу тангенсальной фильтрации, что в последующем нашло отражение в разработке способа производства четырехвалентной вакцины «Ультрикс Квадри», соответствующей требованиям ВОЗ, содержащей не менее 15 мкг гемагглютина каждого утвержденного штамма вируса грип-

па (патент RU №2754398 «Способ получения вакцины для профилактики гриппа»).

На основании результатов проведенного исследования отмечено, что в период 2016-2019 гг. объем извлекаемой ВАЖ был не одинаков, но оценивая пять кроссов (Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь аутосексный, Беларусь коричневый и Родонит-3), максимальный показатель сбора ВАЖ был получен при использовании куриных эмбрионов, полученных от отечественного кросса Родонит-3, от которого получали 8,30...8,62 мл от одного эмбриона, что выше показателей других кроссов (Декалб Уайт, Хайсекс Браун, Беларусь аутосексный и Беларусь коричневый) на 25,8 %.

Такая тенденция с годами сохранилась. Однако наблюдалось повышение выхода ВАЖ, чему причиной являлись более жесткие требования со стороны ООО «Форт» к поставке инкубационных яиц.

В ходе исследований, в период 2016-2019 гг., был осуществлен анализ получения гемагглютинаина в процесс производства противогриппозных вакцин «Совигрипп», «Ультрикс» и «Ультрикс Квадри». Производилась оценка выхода гемагглютинаина, мкг. по каждой поступившей партии, однородность исследования обусловлена соблюдением регламента производства противогриппозных вакцин.

На основании данных исследований, определяющих зависимость выхода гемагглютинаина от использования эмбрионов яичных кур разных кроссов, можно сделать вывод, что кросс Родонит-3 более перспективен, чем другие изучаемые кроссы, что подтверждается данными с 2016 по 2019 год.

В ходе исследований не удалось выявить зависимость выхода гемагглютинаина от периода использования эмбрионов, что позволяет сделать вывод о том, что возраст птицы не влияет на объем получаемого субстрата. Объем получаемого гемагглютинаина зависит от ростовых свойств типа ви-

руса, используемого при производстве противогриппозных вакцин разных методов очистки. Выявлена зависимость извлечения объема вируссодержащей жидкости от времени года и возраста поголовья, что обусловлено особенностями развития поголовья.

Показатель технологических потерь куриных эмбрионов на разных стадиях при производстве противогриппозных вакцин является существенно важным и подвергается оценке, в том числе оцениваются и факторы, влияющие на его образование, в том числе оцениваются и факторы, влияющие на его образование. На основании данных проведенных исследований можно утверждать, что наименьшие технологические потери куриных эмбрионов в процессе производства были достигнуты при использовании куриных эмбрионов кросса Родонит-3, полученных от кур, разводимых в ФХ «Чайка» (Россия, Республика Татарстан). За период исследований объем совокупных технологических потерь не превышал 10 %. Выявлено сокращение технологических потерь, которые связаны с изменением рационов кормления поголовья и схем вакцинации молодняка, применяемых хозяйствами.

Было доказано, что изменение содержания обменной энергии в рационах кормления кур (увеличение на 10-15 %) способствует снижению технологических потерь куриных эмбрионов при производстве противогриппозных вакцин. Повышение обменной энергии с 272 до 282 Ккал/100 г позволило снизить объем технологических потерь куриных эмбрионов с 10 % до 8,6 %, что составляет 14 % от общего объема потерь при производстве куриных эмбрионов кросса Родонит-3.

ВЫВОДЫ

1. При использовании куриных эмбрионов, используемых в производстве противогриппозных вакцин необходимо использовать куриные эмбрионы, соответствующие массе 2-3 грамма, так как развитие эмбриона при достижении данного параметра позволяет получить наиболее высокий выход гемагглютинина – до 70 %, что соответствует требованиям производства.

2. Использование российского яичного кросса Родонит-3 в сравнении с кроссами Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный позволяет достигать наибольшего объема извлекаемой вирусосодержащей жидкости $8,30 \pm 0,5$ мл, что на 5 % выше, чем при использовании эмбрионов, полученных от кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт и на 10 % выше, чем при использовании эмбрионов, полученных от кроссов Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

Применение инкубационных яиц (куриные эмбрионы возраста 9 дней), полученные от кросса Родонит-3, позволяет получать до 70 мкг гемагглютинина от одного куриного эмбриона, что на 12 % выше, чем при использовании эмбрионов от кроссов Хайсекс Браун, Декалб Уайт, и на 20 % выше, чем при использовании эмбрионов от кроссов Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

Использование поголовья кросса Родонит-3 в качестве производителя биологического материала позволяет минимизировать технологические потери при производстве вирусосодержащей аллантоисной жидкости в объеме от 8 до 10 % от общего объема поставки куриных эмбрионов, и является стабильным на протяжении всего периода исследования. В условиях неопределенности внешнеполитических аспектов – обеспечение независимости Российской Федерации в производстве иммунобиологических препаратов может быть достигнута посредством использования российских кроссов кур, обеспечиваю-

щих высокие технологические показатели при производстве противогриппозных вакцин.

3. Оптимальный возраст кур, используемых с целью получения максимального объема вируссодержащей аллантоисной жидкости, поголовья яичных кур, используемых для получения биоматериала соответствует 270-450 дней, в то время как использование более молодой птицы 180-240 дней или достигшей возраста более 450 дней приводит к снижению объема получаемой аллантоисной жидкости и увеличению частоты гибели эмбрионов в процессе работы.

4. Изменение схем вакцинации и рационов кормления с учетом повышения обменной энергии с 272 до 282 Ккал/100 г позволяет уменьшить показатели технологических потерь (гибели эмбрионов) при использовании следующих кроссов: Родонит -3, Хайсекс Браун, Декалб Уайт, Беларусь коричневый, Беларусь аутосексный.

5. На основании проведенных исследований и экономической оценки показателей исследований наиболее оптимальным является применение Российского кросса Родонит-3 в качестве основы производства биологического материала (куриные эмбрионы).

ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ

На основании результатов исследований в целях повышения эффективности производства противогриппозных вакцин при применении куриных эмбрионов:

- Предприятиям осуществляющие производство противогриппозных вакцин определить режимы инкубации и доставки эмбрионов, до уровня массы эмбриона 2...3 г.;

- Предприятиям осуществляющие производство противогриппозных вакцин использовать куриные эмбрионы для производства противогриппозных вакцин использовать Российского отечественного яичного кросса Родонит -3.

- Для птицеводческих хозяйств, осуществляющих производство куриных эмбрионов, используемых для производства противогриппозных вакцин, использовать корма с содержанием обменной энергии не менее 282 Ккал /100 г корма, содержание сырого протеина – не менее 16,2...17,5 %.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве совершенствования технологии производства противогриппозных инактивированных вакцин наибольший интерес вызывает схемы вакцинации птицы в целях создания наибольшего иммунного ответа при инокуляции используемых куриных эмбрионов. Необходимо произвести изучение влияния на культивирование вируса гриппа в случае исключения из схемы вакцинации молодняка, выращиваемого для производства куриных эмбрионов, – вакцины против синдрома снижения яйценоскости, вакцины против инфекционного бронхита птиц, вакцины против инфекционного ларинготрахеита, вакцины против парагриппа и инфекционного ринотрахеита.

Произвести дополнительное изучение условий транспортировки куриных эмбрионов продолжительностью от 20 до 35 часов с учетом сохранения развития эмбрионов и снижения технологических потерь в зависимости от возраста птиц и периода времени года в целях определения оптимальных параметров и условий транспортировки единовременной партий в объеме 120-200 тыс. эмбрионов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авторское свидетельство № 1375645 А1 СССР, МПК С12М 3/00. Устройство для посева вируса гриппа в развивающиеся куриные эмбрионы : № 4039823 : заявл. 19.03.1986 : опубл. 23.02.1988 / Г. Б. Карташов; заявитель Всесоюзный научно-исследовательский проектно-конструкторский институт прикладной биохимии.
2. Авторское свидетельство № 1458381 А1 СССР, МПК С12М 1/00. Устройство для извлечения аллантоисной жидкости из яиц с куриными эмбрионами : № 4089916 : заявл. 28.07.1986 : опубл. 15.02.1989 / Г. Г. Бадер.
3. Алексеев, Ф. Ф. Промышленное птицеводство / Ф. Ф. Алексеев, М. А. Асриян, Н. Б. Бельченко [и др.]; сост.: В. И. Фисинин, Г. А. Тардатьян. – М. : Агропромиздат, 1991. – 544 с.
4. Астраханцева, Т. К. Анализ показателей развития куриных эмбрионов при искусственной инкубации / Т. К. Астраханцева // Сб. статей: Научные труды студентов Ижевской ГСХА / Отв. за выпуск: Н.М. Итешина. – Ижевск, 2022. – С. 840-843.
5. Беляева, С. Н. Профилактика стресса и иммунодефицитных состояний в промышленном птицеводстве биокорректором Тимоген / С. Н. Беляева // Птица и птицепродукты. – 2010. – № 1. – С. 45-48.
6. Бессарабов, Б. Ф. Инкубация яиц с основами эмбриологии сельскохозяйственной птицы / Б. Ф. Бессарабов. – М. : КолосС, 2006. – 240 с.
7. Бессарабов, Б. Ф. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы : справочник / Б. Ф. Бессарабов, Н. П. Мишуров. – М. : Росинформагротех, 2000. – 286 с.
8. Бессарабов, Б. Ф. Птицеводство и технология производства яиц и мяса птиц / Б. Ф. Бессарабов, Э. И. Бондарев, Т. А. Столляр. – СПб. : Лань, 2005. – 352 с.

9. Биотехнологический процесс очистки образцов штаммов вируса гриппа, наработанных на развивающихся куриных эмбрионах / П. Ю. Торжкова [и др.] // В книге: IV Международная конф. молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов. – 2019. – С. 187-189.
10. Благова, В. О. О птицеводстве – на научной сессии РАСХН / В. О. Благова // Птицеводство. – 2001. – № 5. – С. 2-5.
11. Боголюбский, С. И. Селекция сельскохозяйственной птицы / С. И. Боголюбский. – М. : Агропромиздат, 1991. – 285 с.
12. Буртов, Ю. З. Инкубация яиц : справочник / Ю. З. Буртов, Ю. С. Голдин, И. П. Кривошипин. – М. : Агропромиздат, 1990. – 239 с.
13. Вакцина // Большая советская энциклопедия : [в 30 т.] / Гл. ред. А. М. Прохоров. – 3-е изд. – М. : Советская энциклопедия, 1969–1978.
14. Вакцина против гриппа и способ ее получения : патент RU 2523614 С1. 20.07.2014 / Н. В. Загидуллин [и др.] – Заявка № 2013119035/15 от 09.04.2013.
15. Вакцинация против гриппа детей дошкольного возраста в Российской Федерации: фармакоэкономические аспекты применения квадριвалентной вакцины / А. В. Рудакова [и др.] // Журнал инфектологии. – 2019. – Т. 11. – № 1. – С. 92-97.
16. Вакцинная композиция и способ ее применения : патент RU2277905 С2, 20.06.2006 / Г. Галлили, Н. Фридман. – Заявка № 2002107313/15 от 21.08.2000.
17. Васильев, Ю. М. Сравнительное размножение вирусов гриппа птиц в культуре клеток и куриных эмбрионах / Ю. М. Васильев, И. А. Руднева, И. Б. Коптяева // Вопросы вирусологии. – 2009. – Т. 54. – № 4. – С. 18-24.
18. Васильев, Ю. М. Оптимизация размножения вирусов гриппа птиц в различных субстратах и совершенствование инактивированных вакцин про-

тив вируса гриппа птиц : дис. ... канд. биол. наук / Ю. М. Васильев; НИИ вакцин и сывороток им И.И. Мечникова РАН. – М., 2010. – 321 с.

19. Васькин, В. Ф. Современные подходы к организации эффективного и экологически чистого производства в птицеводстве / В. Ф. Васькин, А. А. Кузьмицкая, О. Н. Коростелева // Управленческий учет.– 2020.– № 2. – С. 24-29.

20. Всемирная организация здравоохранения. Вопросы и ответы об иммунизации и безопасности вакцин. WHO (апрель 2018). Дата обращения: 24 апреля 2020.

21. Горбачева, Н. Породы кур и их содержание в приусадебном хозяйстве / Н. Горбачева. – М. : Искусство и мода, 1993. – 143 с.

22. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIII издание. – 2015. – Том 1. – С. 350-1080.

23. Гудлетт, Т. А. Волюметрический анализ сердечных камер и трехмерная реконструкция сердца во время кардиогенеза у куриных эмбрионов / Т. А. Гудлетт // Морфология. – 2011. – Т. 5, № 2. – С. 39-44.

24. Давтян, А. Д. Воспроизводство и искусственное осеменение сельскохозяйственной птицы / А. Д. Давтян. – Сергиев Посад, 1999. – 239 с.

25. Дешева, Ю. А. Пути усовершенствования живой гриппозной вакцины и тактики ее применения при подготовке к пандемии : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Ю. А. Дешева. – СПб. – 2009. – 41 с.

26. Динамика дыхательной активности куриного эмбриона в процессе инкубации / И. П. Салеева [и др.] // Птица и птицепродукты. – 2020. – № 6. – С. 24-26.

27. Егоров, А. Ю. Проблема создания универсальной противогриппозной вакцины / А. Ю. Егоров // Независимые микробиологические исследования. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 1-12.

28. Елизаров, Е. С. Племенная работа с мясными курами / Е. С. Елизаров, А. В. Егорова, Л. В. Шахнова. – Сергиев Посад, 2000. – 192 с.

29. Есмагамбетов, И. Б. Современные подходы к созданию универсальной вакцины против вируса гриппа / И. Б. Есмагамбетов [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2016. – № 2. – С. 21-36.

30. Инактивированная вакцина против синдрома снижения яйценоскости птиц : патент RU 2233671 С1, 10.08.2004 / В. В. Борисов [и др.]. – Заявка № 2003100194/12 от 04.01.2003.

31. Инкубация с основами эмбриологии / Н. П. Третьяков [и др.]. – М. : Агропромиздат, 1990. – 192 с.

32. Кавыев, А. А. Новые достижения в разработке ДНК вакцин против гриппа / А. А. Кавыев, С. А. У. Махкамов, А. А. Деревцова // Сб.: Eurasia Science: материалы XXVI междунар. научно-практич. конференции. – 2019. – С. 54-57.

33. Киселев, Л. Ю. Породы, линии и кроссы сельскохозяйственной птицы / Л. Ю. Киселев, В. Н. Фатеев. – М. : Колос, 2005. – 112 с.

34. Киселев, О. И. Прогресс в создании пандемических противогриппозных вакцин и технологии их производства / О. И. Киселев // Биотехнология. – 2010. – № 2. – С. 8-24.

35. Коган, З. Н. Признаки экстерьера и интерьера у кур (генетика и хозяйственное значение) / З. Н. Коган. – Новосибирск : Наука, 1979. – 295 с.

36. Коровушкин, А. А. Оптимизация технологии содержания кур кросса Ломанн белый в условиях реконструируемого птицеводческого предприятия ООО «Новодеревенская птицефабрика» / А. А. Коровушкин, Д. А. Полетаев // Вестник Рязанского гос. агротехнол. ун-та имени П. А. Костычева. – № 2 (30). – 2016. – С. 44-46.

37. Кочиш, И. И. Какая несушка перспективнее? / И. И. Кочиш // Птицеводство. – 1999. – № 4. – С. 24-25.

38. Кочиш, И. И. Куры / И. И. Кочиш. – М. : Колос, 1992. – 16 с.
39. Кочиш, И. И. Опыт работы с птицей фирмы «Еврибрид» (Нидерланды) / И. И. Кочиш, М. Ю. Пеэгел. – М. : Россельхозиздат, 1984. – 128 с.
40. Кочиш, И. И. Птицеводство / И. И. Кочиш, М. Г. Петраш, С. Б. Смирнов. – М. : КолосС, 2003. – 407 с.
41. Кочиш, И. И. Селекция в птицеводстве / И. И. Кочиш. – М. : Колос, 1992. – 272 с.
42. Коцаев, А. Г. Птицеводство: из прошлого – в будущее / А. Г. Коцаев, В. И. Щербатов // Птицеводство. – 2019. – № 5. – С. 6-7.
43. Кривошипин, И. П. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы. Методические рекомендации /И. П. Кривошипин. – Сергиев Посад, 1997. – 32 с.
44. Кузьминова, Е. В. Экологически безопасные технологии повышения продуктивности птицы / Е. В. Кузьминова, М. П. Семененко, А. Г. Коцаев // *Advances in agricultural and biological sciences*. – 2017. – Т. 3, № 2. – С. 5-10.
45. Ларионова, Н. В. Возбудители гриппа: в природе и эксперименте : дис. ... д-ра биол. наук / Н. В. Ларионова. – СПб. – 2017. – 336 с.
46. Лесневская, Д. А. Оптимизация параметров инкубации при культивировании штамма A/VICTORIA/2570/2019 (H1N1) вируса гриппа на куриных эмбрионах / Д. А. Лесневская // *Студенческий*. – 2021. – № 16-1(144). – С. 36-39.
47. Марков, Ю. Я. Российские конкурсные испытания бройлеров / Ю. Я. Марков // *Птицеводство*. – 1994. – № 2. – С. 2-5.
48. Массообмен воздуха в инкубаторах с учетом дыхательной активности куриных эмбрионов / И.П. Салеева [и др.] // *Птицеводство*. – 2021. – № 7-8. – С. 50-55.

49. Махчан, В. С. Влияние искусственной аэронизации куриных яиц на развитие эмбрионов / В. С. Махчан, Т. В. Дмитриева, И. П. Курило // Зоотехническая наука Беларуси. – 2004. – Т 39. – С. 96-99.

50. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа / Т. А. Бектимиров, Н. И. Лонская, Л. В. Агафонова [и др.] // Методические указания МУ 3.3.2.1758 – 03. – 2003. – 34 с.

51. Миронов, А. Н. Экспериментально-клиническое обоснование выбора стратегии профилактики гриппозной инфекции в период подготовки к пандемии : дис. ... д-ра мед. наук / А. Н. Миронов. – М., 2010. – 453 с.

52. МУ 3.3.2.1758-03 Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа.

53. Нефедова, С. А. Регулирование белкового обмена у кур несушек при применении настоя из лекарственных растений / С. А. Нефедова, Т. С. Минаева // Вестник Рязанского гос. агротехнол. ун-та им. П.А. Костычева. – 2018. – № 3 (35). – С. 58-62.

54. Нефедова, С. А. Цитоморфологические и биохимические аспекты адаптивности животных к условиям среды обитания : монография / С. А. Нефедова, А. А. Коровушкин; под ред. Е. С. Иванова. – Рязань : Изд-во учебной и учебно-методической лит-ры ФГОУ ВПО РГАТУ, 2011. – 147 с.

55. Общие вопросы иммунологии и возникновения иммунодефицитов / П. А. Красочко, В. М. Холод, С. В. Шабунин [и др.]. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2021. – 435 с.

56. Орлов, М. В. Биологический контроль в инкубации / М. В. Орлов. – М. : Россельхозиздат, 1987. – 223 с.

57. Орлов, М. В. Разведение кур / М. В. Орлов, Э. К. Силин. – М. : Колос, 1981. – 268 с.

58. Осипова, Н. И. Репродукция вируса гриппа А птиц в первичной культуре клеток и аллантоисной полости куриных эмбрионов / Н. И. Осипова // Ветеринария. Реферативный журнал. – 2006. – № 3. – С 663.

59. Отрыганьев, Г. К. Болезни эмбрионов / Г. К. Отрыганьев, Б. Ф. Бессарабов. – М. : Россельхозиздат, 1981. – 136 с.

60. Отрыганьев, Г. К. Технология инкубации / Г. К. Отрыганьев, А. Ф. Отрыганьева. – М. : Росагропромиздат, 1989. – 189 с.

61. Паронян, И. А. Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных в России и сопредельных странах / И. А. Паронян, О. П. Юрченко. – СПб., 1994. – С. 377-403.

62. Патент № 2742109 С1 Российская Федерация, МПК А23К 50/75, А23К 10/16, А23К 20/28. Способ кормления цыплят-бройлеров : № 2020109791 : заявл. 05.03.2020 : опубл. 02.02.2021 / А. А. Бойко, Е. С. Волобуева, А. Г. Кощаев [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина».

63. Пашаева, О. Н. Влияние вируса гриппа на характер гибели куриных эмбрионов после инкубации / О. Н. Пашаева, А. Н. Пашаева, А. Б. Якупова // Сб.: Биология будущего : материалы XI науч. конф. молодых ученых. – 2021. – С. 75-77.

64. Пенионжкевич, Э. Э. Разведение и племенное дело в птицеводстве / Э. Э. Пенионжкевич, К. В. Злочевская, Л. В. Шахнова. – М. : Агропромиздат, 1989. – 255 с.

65. Пенионжкевич, Э. Э. Сельскохозяйственная птица / Э. Э. Пенионжкевич. – М., 1962. – 488 с.

66. Петраш, М. От слов – к конкретным делам / М. Петраш // Птицеводство. – 2001. – № 5. – С. 45-49.

67. Пигарев, Н. В. Практикум по птицеводству и технологии производства яиц и мяса птицы / Н. В. Пигарев, Э. И. Бондарев, А. В. Раевский. – М. : Колос, 1996. – 176 с.

68. Показатели физического развития куриного эмбриона / Л. Д. Тимченко, С. В. Черников, Г. Н. Блажнова, Д. А. Арешидзе // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. – 2011. – № 3. – С. 98-101.

69. Поляничкин, А. А. Популяционная генетика в птицеводстве / Под ред. С.И. Боголюбского. – М. : Колос, 1980. – 271 с.

70. Породы, линии и гибриды птицы. – М. : Россельхозиздат, 1979. – 236 с.

71. Применение иммуностимуляторов для повышения иммуногенности противогриппозной вакцины у водоплавающих птиц / А. М. Скогорева, О. Манжурина, К. В. Прибыткова, О. В. Попова // Сб.: Актуальные вопросы ветеринарной медицины и технологии животноводства : Материалы научной и учебно-методической конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства, Воронеж, 05–25 марта 2012 года. Том 1. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2012. – С. 125-129.

72. Птицеводство России. История. Основные направления. Перспективы развития / М. Г. Петраш [и др.]. – М. : КолосС, 2004. – 297 с.

73. Пути введения. – 11.11.2020. – URL: vaccine-safety-training.org (дата обращения: 11 ноября 2020).

74. Разработка вакцин на основе аденовирусных векторов: обзор зарубежных клинических исследований (часть 1) / Л. В. Черенова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – № 2. – С. 111-126.

75. Разработка технологии производства живой культуральной тривалентной вакцины против сезонного гриппа / Е.А. Нечаева [и др.] // Приоритетные направления развития науки и образования. – 2016. – № 1(8). – С 85-91.

76. Распоряжение Правительства РФ от 18 сентября 2020 г. № 2390-р «Об утверждении Стратегии развития иммунопрофилактики инфекционных болезней на период до 2035 года».

77. Романова, С. Клинические исследования вакцины против гриппа птиц / С. Романова // Ремедиум. – 2006. – № 12. – С. 56-58.

78. Романова, Ю. Р. Генетические детерминанты инфекционности вируса гриппа и иммуногенности противогриппозных вакцин : дис. ... д-ра биол. наук / Ю. Р. Романова. – СПб., 2012. – 167 с.

79. Салахова, К. А. Современные противогриппозные вакцины и их сравнительная характеристика / К. А. Салахова, Э. А. Мулюков // Молодёжная наука: сборник статей VI Международной научно-практической конференции, Пенза, 23 января 2022 года. – Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2022. – С. 237-241.

80. Салеева, И. П. Динамика дыхательной активности куриного эмбриона в процессе инкубации / И. П. Салеева // Птица и птицепродукты. – 2020. – № 6. – С 23-26.

81. Селекционно-генетическая работа в птицеводстве / В. Д. Лукьянова [и др.]. – Киев : Урожай, 1979. – 136 с.

82. Сергеева, М. В. Повышение качества вакцин против гриппа А/Н5N1 путем увеличения стабильности гемагглютинина и использование нового донора репродукции : автореф. ... канд. биол. наук / М. В. Сергеева; НИИ вирусологии им Д.И. Ивановского РАМН. – СПб., 2013. – 21 с.

83. Сметнев, С. И. Птицеводство / С. И. Сметнев. – М. : Колос, 1978. – 304 с.

84. Смирнов, Б. В. 150 советов птицеводам / Б. В. Смирнов, С. Б. Смирнов. – Краснодар : КГАУ, 2001. – 143 с.

85. Смирнов, В. С. Биология возбудителей и контроль гриппа и ОРВИ / В. С. Смирнов, В. В. Зарубаев, С. В. Петленко. – Санкт-Петербург : Гиппократ, 2020. – 336 с.

86. Смирнов, С. Б. Разведение птицы в домашнем и фермерском хозяйстве / С. Б. Смирнов. – Краснодар : КГАУ, 1997. – 180 с.

87. СНиП 2.10.03-84 Животноводческие, птицеводческие и звероводческие здания и помещения.

88. Спасительное средство: как разрабатывают вакцины // РИА Новости. – 07.07.2020. – URL: ria.ru (дата обращения: 1 августа 2020).

89. Способ выделения вируса из аллантаической жидкости зараженного куриного эмбриона : патент RU2116796 С1. 10.08.1998 / С. З. Пискунов, Г. З. Пискунов, Ф. Н. Завьялов. – Заявка № 95100163/14 от 05.01.1995.

90. Способ отбора куриных эмбрионов: патент RU2463591 С1, 10.10.2012 / Е. Е. Тяпугин [и др.]. – Заявка № 2011106675/10 от 22.02.2011.

91. Способ сохранения жизнеспособности куриного эмбриона с дефектом скорлупы в эксперименте / Н. Ю. Пахомова [и др.] // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2021. – Т. 6. № 5. – С. 237-244.

92. Сравнительные особенности различных методов очистки и концентрирования в приготовлении противогриппозной вакцины / Н. Н. Асанжанова, Ш. Ж. Рыскельдинова, О. В. Червякова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164, № 8. – С. 261-264.

93. Станшевская, О. И. Развитие куриных эмбрионов в яйцах с повышенной плотностью белка в зависимости от режима хранения и инкубации / О. И. Станшевская // Сельскохозяйственная биология. – 2009. – Т. 44. – № 2. – С. 97-103.

94. Стручалина, К. Р. Компьютерное моделирование заражения куриного эмбриона в вирусологии / К. Р. Стручалина // Сб.: Разработка и инновации молодых исследователей: материалы II Всерос. научно-практич. конф. молодых исследователей. – 2019. – С. 46-48.

95. Суйя, Е. В. Влияние физических факторов на развитие куриного эмбриона мясного кросса / Е. В. Суйя // Известия Великолукской гос. сельскохозяйственной академии. – 2016. – № 1. – С. 2-6.

96. Сурова, Е. С. Подтверждение выбора инактиватора живого вируса гриппа при производстве гриппозной вакцины на куриных эмбрионах // В книге: Традиции и инновации : материалы научной конф., посв. 187-й годовщине образования Санкт-Петербургского гос. технологического института (Технического университета). – 2015. – С. 125.

97. Технология интенсивной селекции в птицеводстве / С. Н. Свиридова [и др.]. – Минск : Ураджай, 1990. – 96 с.

98. Третьяков, Н. П. Переработка продуктов птицеводства / Н. П. Третьяков, Б. Ф. Бессарабов. – М. : Агропромиздат, 1985. – 287 с.

99. Туников, Г. М. Разведение животных с основами частной зоотехнии / Г. М. Туников, А. А. Коровушкин. – СПб. : Лань, 2016. – 744 с.

100. Тучемский, Л. И. Технология выращивания высокопродуктивных цыплят-бройлеров / Л. И. Тучемский. – Сергиев Посад, 1999. – 203 с.

101. Тяпугин, Е. Е. Отбор куриных эмбрионов для биологической промышленности / Е. Е. Тяпугин // Птицеводство. – 2012. – № 1. – С. 45-47.

102. Тяпугин, Е. Е. Оценка влияния степени развития куриных эмбрионов на накопление экстраэмбриональной жидкости, используемой для производства вирусных вакцин / Е. Е. Тяпугин, Т. А. Скотникова // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2011. – № 6. – С. 40-42.

103. Усков, А. А. Фармакоэкономическое обоснование использования четырехвалентной вакцины против гриппа в Российской Федерации / А. А.

Усков, М. В. Шипилов, А. В. Тутельян // Инфекционные болезни. – 2020. – Т. 18. – № 1. – С. 96-101.

104. Федорова, Е. С. Современное состояние и проблемы племенного птицеводства в России (обзор) / Е. С. Федорова, О. И. Станишевская, Н. Ю. Дементьева // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2020. – Т. 21, № 3. – С. 217-232.

105. Физиология животных и этология / В. Г. Скопичев, Т. А. Эйсымонт, Н. П. Алексеев. – М. : КолосС, 2004. – 720 с.

106. Филогеномика бактериофагов P22-типа для разработки препаратов, модифицирующих иммунную систему молодняка птицы / О. В. Василенко, А. А. Зимин, Н. Н. Назипова [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 164. – С. 318-329.

107. Фисинин, В. И. Мировое и российское птицеводство: реалии и вызовы будущего : монография / В. И. Фисинин. – М. : Хлебпродинформ, 2019. – 469 с.

108. Фисинин, В. И. Мировое и российское птицеводство: состояние, динамика развития, инновационные перспективы / В. И. Фисинин // Материалы XX Международной конференции. – Сергиев Посад, 2020. – 783 с.

109. Фисинин, В. И. Перспективы развития птицеводства / В. И. Фисинин // Экономика. – 2000. – № 5. – С. 67-73.

110. Фисинин, В. И. Применение ресурсосберегающей технологии в производстве мяса птицы / В. И. Фисинин, Т. А. Столляр, В. И. Коноплева. – ВНИИТЭИСХ, 1987. – 52 с.

111. Фисинин, В. И. Производство бройлеров / В. И. Фисинин, Т. А. Столляр. – М. : Агропромиздат, 1989. – 183 с.

112. Фисинин, В. И. Птицеводство на рубеже нового столетия / В. И. Фисинин // Птицеводство. – 1999. – № 2. – С. 4-8.

113. Фисинин, В. И. Способ отбора куриных эмбрионов для производства вирусных вакцин / В. И. Фисинин, Е. Е. Тяпугин, Т. А. Скотникова // Сб.: Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве : Материалы XVII Международной конференции ВНАП, Сергиев Посад, 15–17 мая 2012 года / редколлегия: В.И. Фисинин редактор; И.А. Егоров, Т.В. Васильева ответственная за выпуск. – Сергиев Посад: Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, 2012. – С. 116-118.

114. Фисинин, В. И. Эмбриональное развитие птицы / В. И. Фисинин, И. В. Журавлев, Т. Г. Айдинян. – М. : Агропромиздат, 1990. – 240 с.

115. Харлап, С. Ю. Морфологическая оценка куриных яиц кросса «Родонит» / С. Ю. Харлап, О. В. Чепуштанова, И. В. Суязова // Известия Санкт-Петербургского гос. аграрного университета. – 2018. – № 51. – С. 187-192.

116. Харченко, Е. П. Поиски универсальной противогриппозной вакцины: возможности и ограничения / Е. П. Харченко // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2019. – Т. 18, № 5. – С. 70-84.

117. Хашин, О. В. Адаптация вируса гриппа А птиц к первичной культуре клеток куриных эмбрионов / О. В. Хашин, Е. И. Ярыгина, Д. П. Кузнецов // Материалы международной учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 85-летию академии, Москва, 25–28 января 2004 года. Том Часть 1. – Москва: Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, 2004. – С. 225-227.

118. Хохлов, Р. Ю. Корреляция между ростом куриного эмбриона и его органами размножения / Р. Ю. Хохлов // Морфология. – 2016. – Т. 149. – № 3. – С. 222.

119. Хохлов, Р. Ю. Рост куриного эмбриона и его органов размножения / Р. Ю. Хохлов, С. И. Кузнецов // Нива Поволжья. – 2020. – № 3 (56). – С. 95-99.

120. Цыбалова, Л. М. Универсальные вакцины против гриппа. Разработки, перспективы, использования / Л. М. Цыбалова, О. И. Киселев // Вопросы вирусологии. – 2012. – Т. 57. – № 1. – С. 9-14.

121. Черенова, Л. В. Разработка вакцин на основе аденовирусных векторов: обзор зарубежных клинических исследований (часть 2) / Л. В. Черенова, Т. В. Каштиго, Х. С. Саядян // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – № 4. – С. 329-358.

122. Шевченко, Л. В. Повторное использование куриных эмбрионов в вирусологической практике / Л. В. Шевченко, Н. Н. Власова // Сб.: Состояние, проблемы и перспективы развития ветеринарной науки России : Научная сессия Россельхозакадемии, Москва, 16-17 июня 1999 года. Том 1. – Москва: Российская академия сельскохозяйственных наук, 1999. – С. 281.

123. Штеле, А. Л. Повышение качества продукции птицеводства / А. Л. Штеле. – М. : Россельхозиздат, 1979. – 189 с.

124. American Medical Association (2000). Vaccines and infectious diseases: putting risk into perspective. Архивировано 5 февраля 2015 года. Accessed 11 September 2012. «Vaccines are the most effective public health tool ever created».

125. Biotechnology cultivating the physiologically adapted lactobacilli to create microbial bio-additive for poultry / A. G. Koshchaev, O. V. Takhumova, R. S. Omarov [et al.] // Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2019. – Vol. 6. – No. 3. – P. 5735-5740.

126. Biotechnology of the cultivation of physiologically adapted lactobacilli to create microbial biologics for poultry / A. G. Koshchaev, O. V. Takhumova, R. S. Omarov [et al.]. – 2019. – Vol. 10, No. 2. – P. 592-598.

127. Comparative efficacy of three mumps vaccines during disease outbreak in Eastern Switzerland: cohort study / M. Schlegel, J. J. Osterwalder, R. L. Galeazzi, P. L. Vernazza // *BMJ*. – 1999. – August (vol. 319, № 7206). – P. 352.

128. Development Of Feed Additives For Poultry Farming / A. G. Koshchaev, Yu. A. Lysenko, A. A. Nesterenko [et al.]. – 2019. – Vol. 10, No. 1. – P. 1567-1572.

129. Development of Broadly protective live attenuated influenza vaccine by targeted modification of NS1 gene / P. I. Prokopenko, V. A. Matyushenko, E. A. Stepanova [et al.] // VII международная конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов : в рамках площадки открытых коммуникаций OpenBio-2020, Наугоград Кольцово, 27-29 октября 2020 года. – Наугоград Кольцово: Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 2020. – P. 334-335.

130. Ellenberg, S. S. discussion 21. – In: The complicated task of monitoring vaccine safety / S. S. Ellenberg // *Public Health Reports*. – 1997. – Vol. 112, № 1. – P. 10-20.

131. Evaluating the impact of human papillomavirus vaccines / Y. Chang [et al.] // *Vaccine : journal*. – Elsevier, 2009. – July (vol. 27, № 32). – P. 4355-4362.

132. Fiore, A. E. Seasonal influenza vaccines / A. E. Fiore, C. B. Bridges, N. J. Cox // *Current Topics in Microbiology and Immunology*. – 2009. – T. 333. – С. 43-82.

133. Hardman, Reis T. The role of intellectual property in the global challenge for immunization / Reis T. Hardman // *The Journal of World Intellectual Property*. – 2006. – T. 9, № 4. – P. 413-425.

134. Improvement of specific cholera prevention using immunomodulators / A. V. Filippenko, N. D. Omelchenko, N. I. Pasyukova [et al.] // *Medical Immunology (Russia)*. – 2021. – Vol. 23, No. 4. – P. 915-920.

135. Increasing Access to Vaccines Through Technology Transfer and Local Production. – World Health Organization, 2011. – P. iv+34. – NLM classification: QV 704. – ISBN 978 92 4 150236 8.

136. Influenza vaccines manufacturing in continuous cell lines: problems and solutions // Microbiology Independent Research Journal. – 2017. – Vol. 4, No. 1. – P. 1-9.

137. Looker, C. No-fault compensation following adverse events attributed to vaccination : a review of international programmes / C. Looker // Bulletin of the World Health Organization. – 2011. – Vol. 89. – P. 371-378.

138. Maurice, R. Hilleman dies; created vaccines / R. Maurice // Washington Post. – 2005. – 13 April.

139. Measles. United States, January 1-April 25, 2008 // MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report. – 2008. – May (vol. 57, № 18). – P. 494-498.

140. Meyer, C. Impfgegner und Impfskeptiker : Geschichte, Hintergründe, Thesen, Umgang / C. Meyer, S. Reiter. – Springer Medizin Verlag, 2004. – C. 47. – (Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz).

141. Miller, E. Vaccine programmes and policies / E. Miller, P. C. L. Beverley, D. M. Salisbury // British Medical Bulletin. – 2002. – 1 July (vol. 62, № 1). – P. 201-211.

142. Needham, J. China and the origins of immunology / J. Needham // Centre of Asian Studies Occasional Papers and Monographs. Centre of Asian Studies, University of Hong Kong. – 1980. – Vol. 41.

143. Neighmond, Patti. Adapting Vaccines For Our Aging Immune Systems // Morning Edition. – NPR, 2010. – 7 February.

144. No vaccine for the scaremongers // Bulletin of the World Health Organization. – 2008. – Vol. 86, № 6 (June). – P. 425-426.

145. Non-neutralizing Antibodies Directed at Conservative Influenza Antigens / E. S. Sedova, D. N. Scherbinin, A. A. Lysenko [et al.] // *Acta Naturae*. – 2019. – Vol. 11, No. 4(43). – P. 22-32.
146. Nova et tuta Variolas excitandi per transplantationem, nuper inventa et in usum tracta // *Philosophical Transactions of the Royal Society*. – 1714–1716. – T. 29. – № 339. – C. 393-399. – doi: 10.1098/rstl.1714.0047.
147. Orenstein, W. A. Field evaluation of vaccine efficacy / W. A. Orenstein // *Bulletin of the World Health Organization*. – 1985. – Vol. 63, № 6. – C. 1055-1068.
148. Orenstein, W. A. Measles elimination in the United States / W. A. Orenstein, M. J. Papania, M. E. Wharton // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2004. – May (vol. 189, Suppl. 1, no. Suppl 1). – P. S1-3.
149. Pontifical Academy for Life Statement: Moral Reflections on Vaccines Prepared from Cells Derived from Aborted Human Foetuses // *The Linacre Quarterly*. – 2019. – Vol. 86, № 2-3. – P. 182-187.
150. Possible Side-effects from Vaccines. Centers for Disease Control and Prevention (12 июля 2018). Дата обращения: 24 февраля 2014.
151. Preziosi, M. P. Effects of pertussis vaccination on disease: vaccine efficacy in reducing clinical severity / M. P. Preziosi, M. E. Halloran // *Clinical Infectious Diseases : journal*. – 2003. – September (vol. 37, № 6). – P. 772-779.
152. Public Health Agency of Canada. Vaccine-preventable diseases. Архивировано 13 марта 2015 года. Accessed 11 September 2012. «Vaccines still provide the most effective, longest-lasting method of preventing infectious diseases in all age groups».
153. Safety of vaccines used for routine immunization of U.S. children: a systematic review / M. A. Maglione [et al.] // *Pediatrics*. – American Academy of Pediatrics, 2014. – August (vol. 134, № 2). – P. 325-337.

154. Silverstein, Arthur M. *A History of Immunology* / Arthur M. Silverstein. – 2nd ed. – Academic Press, 2009. – С. 293.

155. The science is clear: Vaccines are safe, effective, and do not cause autism : Hub staff report // The Hub. – 2017. – 11 January.

156. Timonius, E. An account or history of the procuring the small-pox by incision or inoculation as it has for some time been practiced at Constantinople / E. Timonius, J. Woodward // *Philosophical Transactions of the Royal Society*. – Т. 29, № 339. – P. 72-82.

157. United States Centers for Disease Control and Prevention (2011). A CDC framework for preventing infectious diseases. Архивировано 29 августа 2017 года. Accessed 11 September 2012. «Vaccines are our most effective and cost-saving tools for disease prevention, preventing untold suffering and saving tens of thousands of lives and billions of dollars in healthcare costs each year».

158. United States National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). NIAID Biodefense Research Agenda for Category B and C Priority Pathogens. Архивировано 4 марта 2016 года. Accessed 11 September 2012. «Vaccines are the most effective method of protecting the public against infectious diseases».

159. Vaccine Safety : The Facts. – URL: HealthyChildren.org. (дата обращения: 16.04.2019).

160. Vaccines promoted as key to stamping out drug-resistant microbes «Immunization can stop resistant infections before they get started, say scientists from industry and academia». Архивировано 22 июля 2017 года.

161. Wolkerstorfer, A. Factors Affecting the Immunogenicity of the Live Attenuated Influenza Vaccine Produced in Continuous Cell Line / A. Wolkerstorfer, D. Katinger, Ju. Romanova // *Microbiology Independent Research Journal*. – 2016. – Vol. 3, No. 1. – P. 13-24.

162. World Health Organization. Дата обращения: 16 апреля 2019.

ПРИЛОЖЕНИЕ А



Рисунок 4 – Кросс Родонит-3



Рисунок 5 – Кросс Хайсекс Браун, кросс Декалб Уайт



Рисунок 6 – Кросс Беларусь коричневый, кросс Беларусь аутосексный

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 754 398** (13) **C1**(51) МПК
A61K 39/145 (2006.01)
C12N 7/04 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 39/145 (2021.05); A61P 31/16 (2021.05); C12N 7/04 (2021.05)

(21)(22) Заявка: 2020121130, 25.06.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
25.06.2020

Дата регистрации:
01.09.2021

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 25.06.2020

(45) Опубликовано: 01.09.2021 Бюл. № 25

Адрес для переписки:
109456, Москва, Рязанский пр-кт, 75 к 4, 1б, 7эт,
ООО "ФПБ ГАРДИУМ", Купцова Елена
Вячеславовна

(72) Автор(ы):
Катлинский Антон Викентьевич (RU),
Шкунова Наталья Борисовна (RU),
Вандышев Павел Евгеньевич (RU),
Афанасьев Станислав Вадимович (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Общество с ограниченной ответственностью
«ФОРТ» (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2710239 C1, 25.12.2019. WO
2011051235 A1, 05.05.2011. US 2009060950 A1,
05.03.2009. US 7316813 B2, 08.01.2008. RU
2584594 C1, 20.05.2016. Регистрационное
удостоверение ЛП.005594 Ультрикс Квадри
Вакцина гриппозная четырехвалентная
инактивированная расщепленная, дата
регистрации от 19.06.2019 г. // Инструкция по
медицинскому применению (см. прод.)

(54) Способ получения четырехвалентной вакцины для профилактики гриппа

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к иммунологии и фармакологии, и предназначено для производства инактивированной четырехвалентной гриппозной вакцины. Инактивированная четырехвалентная вакцина против гриппа содержит антигены вируса гриппа типа А: H1N1 и H3N2, и типа В: Ямагатской и Викторианской линий. Способ ее производства включает получение антигенов вируса гриппа типа А: H1N1 и H3N2, и типа В: Ямагатской и Викторианской линий, выращенных раздельно в развивающихся куриных эмбрионах.

Антигены состоят из разрушенных вирусных частиц и представляют собой смесь поверхностных и внутренних белков указанных вирусов гриппа. Для производства антигенов проводят ряд заявленных последовательных технологических стадий. Использование изобретения позволяет повысить иммуногенность вакцины при сниженной реактогенности, получая таким образом препарат с высокой степенью очистки антигенов вакцины, а также увеличить стойкость сохранности иммуногенных свойств при надлежащих условиях хранения. 1 табл., 6 пр.

(56) (продолжение):
лекарственного препарата // [он-лайн], [найдено 11.01.2021]. Найдено из Интернет: < URL:
https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=ba510c96-6598-4619-996a-0c3d6f4ec78d&t=

RU 2 7 5 4 3 9 8 C 1

RU 2 7 5 4 3 9 8 C 1