

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА ГРИППА ПТИЦ

Н. В. САДОВНИКОВ,
доктор биологических наук, профессор,
Уральский государственный аграрный университет
(620075, г. Екатеринбург, ул. К. Либкнехта, д. 42)
И. М. ШАРАЕВСКАЯ,
ведущий специалист,
Управление ветеринарии Ленинградской области
(191311, г. Санкт-Петербург, ул. Смольного, д. 3)

Ключевые слова: вакцины, грипп птиц, напряженность иммунитета, титр антител, ферментные препараты, иммуностимуляторы.

Целью настоящих исследований явилось изучение эффективных методов диагностики, профилактики и контроля гриппа птиц, выявление факторов, влияющих на выработку стойкого иммунитета к ВПГП. Работа выполнена на кафедре эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветсанэкспертизы Брянской государственной сельскохозяйственной академии. Экспериментально на опытных группах домашней птицы (куры) установлено иммуностимулирующее действие настойки эхинацеи пурпурной, ферментного препарата НИСТ на выработку антител и напряженности поствакцинального иммунитета против гриппа птиц. Для изучения иммунного статуса птицы применяли иммуностимулирующий препарат эхинацеи пурпурной (доза 0,5 мл 40 % настойки на 1 кг массы птицы) и комплексного препарата «НИСТ» (1 г препарата на 1 кг корма). Для иммунизации использовали инактивированную вирусную вакцину против гриппа типа А подтипа H5 изготовленную из инактивированного вируса гриппа А подтипа H5N1 и масляного адьюванта ОАО «Покровским заводом биопрепаратов». Опытным путем разработаны оптимальные варианты для отбора проб, работы с различным патматериалом, идентификация полученных результатов, в качестве контроля использованы образцы с высокопатогенным штаммом (H5 и H7). Итогом работы стало доказательство целесообразности применения ферментов и иммуностимулирующих препаратов перед проведением вакцинации поголовья в птицеводстве.

LABORATORY ANALYSIS OF AVIAN FLU AND PREVENTIVE VACCINATION AGAINST IT

N. V. SADOVNIKOV,
doctor of biological sciences, professor,
Ural State Agrarian University
(42 K. Liebknehta Str., 620075, Ekaterinburg)
I. M. SHARAEVSKAYA,
leading specialist,
Veterinary Department of Leningrad region
(3 Smolnogo Str., 191311, Saint-Petersburg)

Keywords: vaccines, avian flu, immunity level, antiserum capacity, enzymes, immunostimulators.

The purpose of the the research was to study effective diagnostic methods, prophylaxis and control of avian flu, identification of the factors influencing development of resistant immunity to highly pathogenic avian influenza (HPAI). The research has been carried out at the department of an epizootology, microbiology, parasitology and veterinary sanitary inspection of the Bryansk State Agricultural Academy. The immunostimulating effect of tincture of purple Echinacea and enzyme "NIST" on development of antibodies and the level of postvaccinal immunity against the avian flu was tested on experimental groups of chickens. To study the immune status of birds we used an immunostimulator, purple echinacea (a dose of 0.5 ml for 40 % of tincture for 1 kg of mass of a bird) and the complex drug "NIST" (1 g of drug on 1 kg of forage). Inactivated virus vaccine against flu of A type of the H5 subtype made of the inactivated influenza virus of the H5N1 subtype and an oil adjuvant was used for immunization. Optimal variants were by practical consideration developed for sampling, works with various pathological material, identification of the received results, as control are used samples with the high-pathogenic strain (H5 and H7). As a result, we proved the expediency of use of enzymes and immunostimulating drugs before carrying out vaccination of poultry.

Положительная рецензия представлена О. Г. Петровой, доктором ветеринарных наук, профессором Уральского государственного аграрного университета.

В последние годы эпизоотическая обстановка в мире по гриппу птиц значительно ухудшилась. По данным Всемирной организации здравоохранения животных, в хозяйствах ряда азиатских стран регистрируются массовые заболевания, вызванные высокопатогенным вирусом гриппа А. Такие эпизоотии зарегистрированы в Японии, Республике Корея, Вьетнаме, Таиланде, Камбодже, Тайване, Индонезии, Малайзии, Пакистане, Лаосе, Китайской Народной Республике и Гонконге.

Высокопатогенный грипп птиц (ВПП) – вирусная остро протекающая крайне контагиозная, пантропная, системная болезнь, вызывающая высокую смертность (до 100 %), практически всех домашних, синантропных и диких птиц, возбудителем которой является РНК-содержащий *Influenzavirus* из семейства *Orthomyxoviridae* подтипа H5N1. Вирусы гриппа высоко вариабельны и включают быстрое накопление точечных мутаций и реассортацию генов (Ямникова, 2005). На сегодняшний день известно 16 подтипов вируса гриппа А по поверхностному белку гемагглютинину (H) и 9 подтипов нейраминидазы (N), сочетание этих двух антигенов становится основой паспорта каждого вируса гриппа.

Вакцинация в нашей области используется как один из элементов всесторонней программы по искоренению заболевания, а своевременный серологический контроль – как один из наиболее эффективных путей защиты птицепоголовья от вирусных инфекционных заболеваний и контроля над вирусом. В 2015 году в России было вакцинировано против гриппа 84 млн. 570 тыс. птиц, почти 19 млн. птицы ревакцинировано. Для иммунизации используют инактивированные вирусные или рекомбинантные вакцины, включающие ген агглютинина. Гемагглютинин – один из основных структурных белков вируса гриппа, который вызывает выработку вируснейтрализующих антител и принимает основное участие в формировании иммунитета у домашней птицы. Иммунизации против гриппа подлежат клинически здоровые птицы любого возраста из частных подворий граждан.

Цель и методика исследования. Целью настоящих исследований явилось изучение эффективных методов диагностики, профилактики и контроля гриппа птиц, выявление факторов, влияющих на выработку стойкого иммунитета к ВПП.

Для решения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- организовать проведение эпизоотологического мониторинга и массовых лабораторных исследований материала от дикой и домашней птицы методами ИФА, РТГА и ПЦР с анализом лабораторных исследований;
- изучить особенности различных лабораторных методов диагностики гриппа птиц;

- провести массовые серологические исследования у вакцинированного птицепоголовья частного сектора Брянской области против высокопатогенного гриппа птиц H5N1; изучить факторы, влияющие на эффективность вакцинации птицы;

- изучить влияние концентрированного корма НИСТ и настойки травы эхинацеи пурпурной на физиологическое состояние птицы, гематологические показатели крови птицы;

- исследовать влияние иммуностимулирующего препарата настойки травы эхинацеи пурпурной на формирование поствакцинального иммунитета у вакцинированной птицы;

- исследовать влияние полиферментного препарата НИСТ на формирование поствакцинального иммунитета и его однородность;

- разработать рекомендации по диагностике и профилактике ВПП.

В результате проведенных исследований разработаны и опубликованы рекомендации для ветеринарных специалистов государственной ветеринарной службы Брянской области по диагностике и профилактике гриппа птиц. Разработана «Памятка-инструкция по отбору и доставке проб для лабораторной диагностики гриппа птиц» для ветеринарных специалистов г. Брянска и Брянской области. Впервые на большом поголовье птицы изучена напряженность поствакцинального группового иммунитета после применения новой вакцины (высокопатогенный подтип вируса H5N1). Экспериментально на опытных группах домашней птицы (куры) установлено иммуностимулирующее действие настойки эхинацеи пурпурной, ферментного препарата НИСТ на выработку антител и напряженности поствакцинального иммунитета против гриппа птиц. Впервые в Брянской и Смоленской области применен метод ПЦР для диагностики гриппа птиц. Опытным путем разработаны оптимальные варианты для отбора проб, работы с различным патматериалом, идентификация полученных результатов, в качестве контроля использованы образцы с высокопатогенным штаммом (H5 и H7).

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветсанэкспертизы Брянской государственной сельскохозяйственной академии. Использованы данные ветеринарных, зоотехнических, экономических отчетов и производственная документация, данные актов вакцинации, экспертиз лабораторных исследований и результаты экспериментов.

Для изучения иммунного статуса птицы применяли иммуностимулирующий препарат эхинацеи пурпурной (доза 0,5 мл 40 % настойки на 1 кг массы птицы) и комплексного препарата «НИСТ» (1 г препарата на 1 кг корма).

Объектом исследования явились: беспородные птицы 7–8-месячного возраста из фермерского хозяйства и личного подворья граждан, в котором не проводилась плановая вакцинация кур до начала опыта. Для получения достоверных результатов опытные и контрольные группы птицы имели одинаковый возраст, породу, упитанность, иммунный статус, условия кормления, содержания, ветеринарное обслуживание, обслуживающий персонал, в ходе опыта все птицы были подвергнуты вакцинации одной серии вакцины, для исследования одновременно были отобраны пробы крови.

Схема опыта состояла в том, что птице первой опытной группы скармливали охлажденный до комнатной температуры, заранее запаренный (при температуре 80–90°C) в течение двух часов концентрированный корм, вместе с полиферментным препаратом «НИСТ» в дозе 1 г препарата на 1 кг корма. Ферментный препарат «НИСТ» является комплексным препаратом, предназначенным для высокотемпературной ферментации концентрированных кормов. Препарат содержит антиоксидант, антисептик-спороцид, фунгицид, антислеживающие вещества, адсорбент-носитель и ферменты, обладающие целлюлолитической, пектинолитической, ксиланазной и амилолитической активностью. Птице второй опытной группы скармливали в таком же объеме сухой концентрированный корм и выпаивали настойку травы эхинацеи пурпурной в дозе 0,5 мл на 1 кг массы птицы. Применяемая настойка травы эхинацеи пурпурной является иммуностимулирующим средством растительного происхождения, была использована настойка травы эхинацеи пурпурной на 40 % спирте для стимуляции выработки антител и повышения иммунного ответа на вакцинацию против гриппа птиц. Третья контрольная группа птиц получала сухой концентрированный корм без добавок. Условия содержания всех трех опытных групп были равнозначные.

Испытуемые вакцины и препараты: вакцина против гриппа А (Н5) птиц инактивированная эмульгированная, изготовленная 02.2015 г., серия 18, контр. 18, производства ОАО «Покровский завод биопрепаратов», полиферментный препарат «НИСТ», настойка травы эхинацеи пурпурной *Echinacea purpurea* L. Moench. (эхинацея пурпурная, рудбеккия пурпурная) на 40 % этиловом спирте; набор антигенов и сывороток для диагностики гриппа птиц в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) в полной комплектации (антигены и сыворотки различных вариантов); антигены: ГП1-А (утка) Альберта 35/76 (Н1Н1), ГП2-А (утка) Германия 1215/73 (Н2Н3), ГП3-А (утка) Украина 1/63 (Н3Н8), ГП4-А (утка) Чехословакия/56 (Н4Н6), ГП5-А (крячка) Южная Африка/61 (Н5Н3), ГП6-А (индейка) Массачусетс

3740/65 (Н6Н2), ГП7-А (вирус чумы птиц) Росток/34 (Н7Н1), ГП8-А (индейка) Онтарио 6118/68 (Н8Н4), ГП9-А (индейка) Висконсин 1/66 (Н9Н2), ГП10-А (цыпленок) Германия №/49 (Н10Н7), ГП11-А (утка) Англия /56 (Н11Н6), ГП12-А (утка) Альберта 60/76 (Н12Н5), ГП13-А (черноголовый хохотун) Астрахань 142/7 (Н13Н2); моноспецифические гипериммунные сыворотки к 15 серологическим вариантам вируса гриппа птиц (подтипам Н1–Н15); нормальная сыворотка, не содержащая антител к вирусу гриппа птиц. Коммерческий набор рассчитан на анализ до 100 проб сывороток крови больных и переболевших птиц (ретроспективная диагностика), контроля напряженности иммунитета со специфическими антигенами.

При лабораторном исследовании проб наряду с классическим серологическим методом применялись современные методы исследования: высокоспецифичный метод иммуноферментного анализа ИФА на все подтипы вируса гриппа птиц. Тест-система (ИФА) основана на методе непрямого варианта ИФА, содержит антивидовой конъюгат к иммуноглобулину G кур (на нуклеокапсидный белок NP), подходит для индикации антигемагглютинирующих антител ко всем 15 подтипам вируса гриппа птиц типа А.; Молекулярно-диагностический метод ПЦР на выявление гриппа А и идентификацию подтипов Н5 и Н7 с электрофорезной детекцией в агаровом геле и ПЦР в режиме «реального времени».

Лабораторные исследования проводились в ФГУ «Брянская межобластная ветеринарная лаборатория» в отделе вирусологии и патоморфологии, в отделе серологии и гематологии. Производственные опыты проводили в условиях хозяйств, птицефабрик и личного подворья граждан Брянской, Калужской и Смоленской областей.

Результаты исследований. Наибольшую опасность в последнее время из подтипов вируса гриппа птиц А представляет (Н5Н1), который не только нанес огромный экономический ущерб промышленному птицеводству, но и перешел, так называемый видовой барьер. Поэтому при серологическом исследовании большое внимание уделялось реакции торможения гемагглютинации с антигеном ГП (Н5).

Впервые в нашей области изучали напряженность поствакцинального группового иммунитета после применения новой вакцины (высокопатогенный подтип вируса Н5Н1). При постановке РТГА с особой тщательностью определялась рабочая доза вируса (4 ГАЕ), чтобы не получить заниженные титры сывороток вакцинированных птиц. Реакция была проведена с использованием штамма Н5Н3, входящим в набор РТГА.

Исследования проводили по утвержденным «Правилам лабораторной диагностики гриппа А

птиц): микрометодом РТГА (с использованием диагностических наборов ФГУП «Покровский завод биопрепаратов») на одноразовых 96-гнездных пластиковых планшетах с использованием современного оборудования для проведения вирусологических и серологических исследований (микроцентрифуга, шейкер-инкубатор для планшет, микротермостат, набор многоканальных дозаторов и пластиковых наконечников, водяная баня, ламинарный шкаф и т. д.); методом иммуноферментного анализа ИФА (изготовитель наборов «АВИВАК») также с применением современных приборов и точных анализаторов.

Для иммунизации использовали инактивированную вирусную вакцину против гриппа типа А подтипа H5 изготовленную из инактивированного вируса гриппа А подтипа H5N1 и масляного адьюванта ОАО «Покровским заводом биопрепаратов». Вакцина вызывает у привитых птиц образование специфического иммунитета к любым штаммам вируса, относящимся к высокопатогенному подтипу H5. Иммунитет, при правильном применении вакцины, вырабатывается через 21–28 суток после вакцинации. Через 28–30 суток после вакцинации были проведены серологические исследования (методом РТГА), для чего отбирали 25–30 проб сывороток крови птиц для исследования на наличие напряженности иммунитета. Если в группе вакцинированной птицы титр антител составляет 1:16 и выше более чем у 80 % обследованных проб сывороток крови, птица имеет необходимый уровень антител, ревакцинацию в таком случае рекомендуется проводить через 1 год.

В результате изучения напряженности поствакцинального иммунитета своевременно выдавались практикующим ветеринарным врачам рекомендации, а в соответствии с полученными титрами предлагалась схема корректировки для получения стойкого иммунитета.

На практике в нашей области была получена необходимая массовая «защитная» реакция у птицеполовья частного сектора, в случае попадания в населенный пункт высокопатогенного вируса удастся избежать накопления вирулентности вируса и экономических потерь со стороны владельцев птицы.

Также проводилось экспериментальное скормливание препарата НИСТ и выпаивание настойки травы эхинацеи пурпурной домашней птице, не вакцинированной против гриппа птиц.

В опыте изучалось применение препаратов на двух опытных группах кур, по 10 птиц в каждой, одна группа из 10 кур оставалась контрольной. До начала опыта все три группы птиц поголовно были исследованы на наличие антител к гриппу птиц методами ИФА и РТГА на подтипы H1–H13 и был проведен молекулярный анализ образцов (белка яиц,

помета) на наличие РНК вируса гриппа, в результате исследований антител в сыворотке крови к вирусу гриппа птиц не обнаружено, РНК вируса гриппа А не выделена. До начала опыта и по окончании применения препаратов кровь от кур всех трех групп была исследована гематологически.

Средняя простая величина показателей крови вычислялась по методу Стьюдента:

$$X_{cp} = \text{сумма } x/N$$

После применения ферментного препарата НИСТ в первой опытной группе содержание гемоглобина к крови увеличилось на 5,7 %. Во второй опытной группе после выпаивания настойки травы эхинацеи по окончании опыта показатель крови – гемоглобин – остался на прежнем уровне, а в контрольной группе уровень гемоглобина вырос на 2 %.

В первой опытной группе среднее количество содержания эритроцитов в крови по окончании опыта возросло на 10 %, при этом во второй и в третьей (контрольной) группах осталось на прежнем уровне.

В первой опытной группе средняя величина лейкоцитов в конце опыта практически не изменилась (снизилась на 0,03 %). А во второй опытной группе средняя величина лейкоцитов в конце опыта увеличилась значительно, на 9,697 %, что обеспечило впоследствии качественный показатель уровня поствакцинальных антител. В третьей группе кур количество лейкоцитов после окончания опыта осталось неизменным.

В проведенном опытном исследовании птице первой опытной группы скормливали концентрированный корм вместе с полиферментным препаратом НИСТ.

Птице второй опытной группы скормливали в таком же объеме сухой концентрированный корм и выпаивали настойку травы эхинацеи пурпурной в дозе 0,5 мл на 1 кг массы птицы.

Третья контрольная группа птиц получала сухой концентрированный корм без добавок. Условия содержания всех трех опытных групп были одинаковы.

Через три дня от начала опыта все три группы кур в количестве 30 голов были подвергнуты вакцинации против гриппа птиц. Антигенную активность вакцины оценивали по динамике накопления антител к вирусу ГП у привитых цыплят. На 14, 21 и 28 сутки после вакцинации у привитых цыплят и цыплят контрольной группы брали кровь и получали сыворотки, которые индивидуально тестировали в РТГА.

В контрольной группе 3 пробы сывороток крови имели титры антител от 1:4 до 1:8, что является недостаточным для того, чтобы считать поголовье иммунным. В то же время в первых двух опытных группах вся птица была достаточно иммунной, титры антител в РТГА составили от 1:16 до 1:128.

1 группа (применялся препарат НИСТ) <i>1st group (NIST)</i>	2 группа (применялась настойка эхинацеи пурпурной) <i>2nd group (purple echinacea)</i>	3 группа (контрольная) <i>3rd group (control)</i>
Титр антител в РТГА <i>Antiserum capacity in HIT</i>	Титр антител в РТГА <i>Antiserum capacity in HIT</i>	Титр антител в РТГА <i>Antiserum capacity in HIT</i>
1:16 – 5 проб <i>1:16 – 5 tests</i>	1:16 – 2 пробы <i>1:16 – 2 tests</i>	1:4 – 1 проба <i>1:4 – 1 test</i>
1:32 – 3 пробы <i>1:32 – 3 tests</i>	1:32 – 3 пробы <i>1:32 – 3 tests</i>	1:8 – 2 пробы <i>1:8 – 2 tests</i>
1:64 – 2 пробы <i>1:64 – 2 tests</i>	1:64 – 3 пробы <i>1:64 – 3 tests</i>	1:16 – 3 пробы <i>1:16 – 3 tests</i>
	1:128 – 2 пробы <i>1:128 – 2 tests</i>	1:32 – 4 пробы <i>1:32 – 4 tests</i>
100 % напряженность <i>100 % immunity level</i>	100 % напряженность <i>100 % immunity level</i>	70 % напряженность <i>70 % immunity level</i>

Через 28 дней после применения вакцины у птицы всех групп была третий раз взята кровь. Сыворотку крови исследовали на наличие поствакцинальных антител к гриппу птиц подтипа Н5 в реакции торможения геагглютинации. У кур первой и второй опытных групп результаты вакцинации составили 100 %, в контрольной группе – 70 %, что доказывает усиление действия иммуногенности вирусных вакцин при применении ферментного и иммуностимулирующих препаратов.

Напряженность иммунитета против гриппа птиц Н5 и уровень антител в сыворотке крови птиц в двух первых группах были в титре от 1:16 и выше и составили 100 %, а в контрольной группе кур напряженность иммунитета была недостаточно эффективна и составила лишь 70 %. Следовательно, применение препарата НИСТ и выпаивание настойки травы эхинацеи пурпурной могут рассматриваться как перспективный источник для повышения эффективности вакцинных препаратов, они оказывают заметное влияние на иммунную систему птиц и позволяют обеспечить надежную защиту организма при применении вирусвакцин.

Выводы.

1. Проведена сравнительная оценка молекулярно-диагностического (ПЦР) и серологических (РТГА, ИФА) методов.

2. При проведении опыта на домашней птице было доказано усиление действия иммуногенности вирусных вакцин при применении ферментированного корма и иммуностимулирующих препаратов. Используемая настойка травы эхинацеи пурпурной является иммуностимулирующим средством растительного происхождения. Эхинацея пурпурная – ценное лекарственное растение, используемое для получения многих лекарственных препаратов в ветеринарной и медицинской практике. Препарат «НИСТ» применяется для проведения высоко-

температурной ферментации концентрированных кормов, в процессе которой питательные вещества переходят в легкоусвояемую животными форму, при ферментации содержащиеся в концентрированных кормах полисахариды (целлюлозы, гемицеллюлозы, крахмала) переходят в хорошо усвояемую организмом птицы форму, белки расщепляются до низших пептидов и аминокислот. Антипитательные вещества белковой природы, а также микотоксины – афлатоксин, зеараленон, Т2 – после ферментации не оказывают отрицательного влияния на процесс пищеварения. Подготовка концентрированных кормов к скармливанию по технологии высокотемпературной ферментации обеспечивает увеличение усвоения питательных веществ примерно на 30 %.

3. Итогом работы стало доказательство целесообразности применения ферментов и иммуностимулирующих препаратов перед проведением вакцинации поголовья в птицеводстве. Вакцинация была проведена более эффективно, напряженность поствакцинального иммунитета составила в опытных группах 100 %, в контрольной группе лишь 70 %, следовательно, контрольная группа птиц подлежит ревакцинации. Таким образом, применение препарата НИСТ и настойки эхинацеи пурпурной предотвращает экономические потери на проведение возможной ревакцинации птицы.

4. В результате проведенного опыта на трех группах кур и лабораторных испытаний препарат «НИСТ» и настойку эхинацеи пурпурной можно рекомендовать к практическому применению для усиления иммуногенности вирусных вакцин. Иммунитет с более высоким и стойким уровнем напряженности формируется у птиц при вакцинации с применением иммуностимулирующих средств, о чем свидетельствует более высокий титр антител в сыворотке крови исследованных птиц.

Литература

1. Маловастый К. С. Грипп птиц : обзор методических рекомендаций для ветврачей Брянской области. Брянск, 2006. 50 с.
2. Шараевская И. М. Стратегия профилактики гриппа птиц // Мат. междунар. науч.-практ. конф. (23–24 мая 2014). Брянск, 2014. С. 76.
3. Шараевская И. М. Актуальные проблемы вакцинации и напряженности иммунитета против гриппа птиц в ветеринарной практике в Брянской области // Ветеринария. Зоотехния. Комбикорма : мат. междунар. спец. конгресса-выставки. СПб., 2013. С. 260.
4. Шараевская И. М., Маловастый К. С. Актуальные проблемы вакцинации против гриппа птиц в ветеринарной практике в Брянской области // Научный журнал Брянской государственной сельскохозяйственной академии. Отдельный выпуск. Брянск, 2007. С. 65–68.
5. Маловастый К. С., Шараевская И. М. Поствакцинальный иммунитет птицы к гриппу // Птицеводство. 2007. № 5. С. 23.
6. Шараевская И. М., Маловастый К. С. Опыт применения оценки поствакцинального иммунитета к гриппу птиц // Научные проблемы производства продукции животноводства и улучшения ее качества : сб. науч. тр. международной научно-практ. конф. Брянск, 2007. С. 455 .
7. Ториков В. Е., Маловастый К. С., Шараевская И. М. Эффективность использования эхинацеи // Совершенствование методов профессиональной подготовки врача ветеринарной медицины : мат. Всеросс. сем. Брянск, 2008. С. 20.

References

1. Malovasty K. S. Avian flu : review of methodical references for veterinarians of the Bryansk region. Bryansk, 2006. 50 p.
2. Sharayevskaya I. M. Strategy of prophylaxis of an avian flu // Proc. of intern. scient. and pract. symp. (May 23–24, 2014). Bryansk, 2014. P. 76.
3. Sharayevskaya I. M. Urgent problems of vaccination and immunity level against avian flu in veterinary practice in the Bryansk region // Veterinary medicine. Zootechnics. Compound feeds : proc. of intern. special congress exhibition. SPb., 2013. P. 260.
4. Sharayevskaya I. M., Malovasty K. S. Urgent problems of vaccination against avian flu in veterinary practice in the Bryansk region // Scientific Journal of the Bryansk State Agricultural Academy. Special issue. Bryansk, 2007. P. 65–68.
5. Malovasty K. S., Sharayevskaya I. M. Postvaccinal immunity of a bird to flu // Poultry farming. 2007. № 5. P. 23.
6. Sharayevskaya I. M., Malovasty K. S. Experience of use of assessment of postvaccinal immunity to an avian flu // Scientific problems of production of livestock production and improvement of its quality : coll. of scient. art. of intern. scient. and pract symp. Bryansk, 2007. P. 455.
7. Torikov V. E., Malovasty K. S., Sharayevskaya I. M. Efficiency of use of echinacea // Improvement of methods of vocational training of the doctor of veterinary medicine : proc. of all-Russian symp. Bryansk, 2008. P. 20.