

# ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ТИТРОВ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ К HBsAg В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЖЕЛТКАХ ЯИЦ ПЕРЕПЕЛОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ИММУНИЗАЦИИ

В.Б. Сбойчаков<sup>1</sup>, С.В. Борисенко<sup>2</sup>, А.М. Сокурова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»

<sup>2</sup> Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства Российской академии сельскохозяйственных наук»

**Резюме.** Проведено исследование по поиску экономически более рентабельного источника иммунодиагностических препаратов. Определение титров специфических иммуноглобулинов к HBsAg в сыворотке крови и желтках яиц перепелов при использовании различных препаратов для иммунизации показало, что наиболее эффективной является иммунизация перепелов HBsAg, сорбированным на гидроксиде алюминия и введенным в обратную эмульсию «вода—масло».

*Ключевые слова:* HBsAg, специфические иммуноглобулины, титр, перепел.

## THE DYNAMICS OF TITERS CHANGES OF SPECIFIC IMMUNOGLOBULINS TO HBsAg IN SERUM AND YOLK OF QUAIL EGGS IN CASE OF USING OF DIFFERENT PREPARATION FOR IMMUNIZATION

Sboychakov V.B., Borisenko S.V., Sokurova A.M.

**Abstract.** The special study to find a more cost-effective source of immunodiagnostic products was conducted. Determination of titers of specific immunoglobulins to HBsAg in serum and egg yolk of quail using different preparation for immunization showed that the most effective mode is immunization of quail by the HBsAg adsorbed on aluminum hydroxide and injected into reverse emulsion «water—oil». (*Infekc. immun.*, 2011, vol. 1, N 3, p. 249–254)

*Key words:* HBsAg, specific immunoglobulin, titer, quail.

## Введение

Вирусные гепатиты представляют глобальную проблему для населения Земли. По оценкам Всемирной организации здравоохранения более 600 тысяч человек ежегодно умирает от острой или хронической формы гепатита В.

Учитывая продолжающийся рост заболеваемости вирусным гепатитом В в связи с распространением наркомании, а также внутрибольничного инфицирования медицинских работников и доноров крови, проблема диагностики этого заболевания в России, является одной из наиболее важных.

поступила в редакцию 12.04.2011  
принята к печати 14.04.2011

© Сбойчаков В.Б.,  
Борисенко С.В.,  
Сокурова А.М., 2011

### Адрес для переписки:

Сбойчаков Виктор Борисович,  
д.м.н., профессор, зав. кафедрой  
микробиологии ФГБОУ ВПО  
«Военно-медицинская академия  
имени С.М. Кирова»

194044, Санкт-Петербург, ул. Лебедева, 6,  
Военно-медицинская академия  
имени С.М. Кирова.  
Тел.: (812) 329-71-69 (служебн.).  
E-mail: sb1950@mail.ru

«Золотым стандартом» в диагностике вирусного гепатита В является выявление HBsAg. За последние годы значительно возросла чувствительность и специфичность существующих тест-систем. В качестве диагностического средства используются моноклональные антитела, полученные с помощью гибридомной технологии, и сывороточные поликлональные антитела, полученные от животных-доноров. Производство диагностических антител к HBsAg является длительным и дорогостоящим процессом.

Целью нашего исследования был поиск экономически более рентабельного источника иммунодиагностических препаратов [18] и определение титров специфических иммуноглобулинов к HBsAg в сыворотке крови и желтках яиц перепелов при использовании различных препаратов для иммунизации.

## Материалы и методы

При планировании и проведении экспериментальной работы руководствовались положениями следующих документов: приказов Минздравсоцразвития РФ [11], ГОСТов [1–3], правил [14, 17], руководств [7, 16], методических рекомендаций [4, 5, 8, 9].

Для приготовления препаратов для иммунизации перепелов использовали рекомбинантную вакцину против гепатита В фирмы GlaxoSmithKline Biologicals s.a. (Бельгия) «Энджерикс В», содержащую основной поверхностный антиген вируса гепатита В — HBsAg в концентрации 20 мкг/мл, сорбированный на гидроокиси алюминия, и адъювант «Montanide ISA 70 VG» фирмы «Сеппик» (Франция) для неспецифического усиления иммунного ответа.

В условиях лаборатории содержали перепелов *Coturnix coturnix japonica* мясного кросса породы «Фараон» в количестве 47 голов (каждая птица весом 100–140 г), которые были получены в возрасте 20 сут. из ОАО «Перепелочка» (Ленинградская область). Все птицы были обследованы на соответствие статусу SPF (specific pathogen free — свободный от специфических патогенов).

Кормление птиц осуществляли комбикормом ПК-5 производства ЗАО «Гатчинский ККЗ» (Ленинградская область), ГОСТ Р 50258-92 [1, 10, 13].

Помещения для экспериментальных животных полностью обеспечивали изоляцию птиц и позволяли отдельно содержать каждую экспериментальную группу перепелов.

Для содержания перепелов применяли клетки из оцинкованной металлической сетки с ячейками 70 x 10 мм размером 250 x 350 x 200 мм. В каждой клетке содержали по 5 особей. Поили перепелов кипяченой водой, используя вакуумные поилки объемом 300 мл. Вода в поилках находилась постоянно [13].

Освещение в помещении было естественным [4, 12, 13]. Температура воздуха в помещении в ходе эксперимента составляла  $24,8 \pm 0,6^\circ\text{C}$ .

Условия содержания экспериментальных животных в виварии обеспечивали для них нормальный биологический фон и полностью соответствовали требованиям санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) [17].

Оптимальная методика иммунизации перепелов, доза антигена и адъюванты были подобраны на основе анализа и обобщения данных литературных источников [20–22].

В ходе исследования было создано две опытные и одна контрольная группы перепелов, которые приведены в табл. 1.

Опытные группы № 1 и 2 были предназначены для определения наиболее эффективной формы иммунизации птиц. Контрольная группа была предназначена для определения влияния на птиц условий содержания.

Препарат для иммунизации вводили однократно в верхнюю треть дорсальной поверхности шеи параллельно продольной оси шейного отдела позвоночника, не травмируя мышцы и фасции птицы-донора, равномерно распределяя препарат по дорсальной поверхности подкожной клетчатки шеи непосредственно в области тимуса (иммунокомпетентного органа), не травмируя его (рис., III обложка), по 200 мкг рекомбинантного HBsAg на инъекцию для каждого животного.

Отбор проб крови для исследований на наличие антител к HBsAg производили один раз в 10 сут. от трех птиц каждой группы в объеме 0,3 мл, начиная с возраста перепелов 34 сут., то есть на 10 сутки после иммунизации. Выделение проб желточной массы производили один

**ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕПЕЛОВ ПО ГРУППАМ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Группа	Количество птиц	Препарат для иммунизации
Опытная группа № 1	13 ♀/2 ♂	HBsAg, сорбированный на гидроокиси алюминия и заключенный в обратную эмульсию «вода–масло»
Опытная группа № 2	13 ♀/1 ♂	HBsAg, сорбированный на гидроокиси алюминия
Контрольная	17 ♀/1 ♂	Натрия хлорид раствор для инфузий 0,9 %

раз в 10 сут. от каждой из трех подгрупп, начиная с момента снесения первого яйца.

При определении титра иммуноглобулинов против HBsAg в исследуемых пробах сывороток крови и желтках яиц перепелов за основу взяли методику, изложенную в «Наставлении по применению набора для определения антител к вирусу инфекционного бронхита кур иммуноферментным методом» (утвержденных заместителем руководителя Департамента ветеринарии 06 июня 2001 г.).

Анализ информации осуществлялся на персональном компьютере «Celeron® CPU 2.40 GHz» с использованием инструмента «Анализ данных» пакета прикладных программ «Microsoft Excel 7.0» и пакета прикладных программ «Statistica 6.0 for Windows» [6, 15, 19].

Для сравнения полученных результатов в качестве основного статистического метода применяли выборочное оценивание, приняв допущение, что случайная величина распределена по нормальному закону. Интервальная оценка проводилась с помощью распределения Стьюдента. При нелинейности связи между признаками применили непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Рассчитывалось среднее выборочное значение ( $\bar{X}$ ), среднее квадратическое (стандартное) отклонение от среднего значения ( $S$ ) и ошибка средней величины ( $m_{\bar{X}}$ ). При анализе экспериментальных данных и оценки надежности статистических выводов в биологических системах вероятность ошибки не должна превышать 0,05. Это условие и было принято при анализе экспериментальных данных [6, 15, 19].

## Результаты

Для изучения динамики изменений титров специфических иммуноглобулинов к HBsAg в сыворотке крови и желтках яиц перепелов при использовании различных препаратов для иммунизации разработали скрининговую тест-систему. Для этого использовали рекомбинантный HBsAg, полученный из ЗАО «ЭКОлаб» (Россия). Объем рекомбинантного HBsAg — 1 мл, концентрация — 1,37 мг/мл.

Предварительно HBsAg разводили до концентрации 30 мкг/мл в 0,1 М карбонатно-бикарбонатном буферном растворе (pH 9,5–9,6), вносили в лунки полистироловых планшетов и инкубировали в течение 16–18 ч при температуре +4°C, затем промывали 0,01 М ФБР (pH 7,2–7,4) с 0,5% твин-80 и 1 % БСА. Стартовое разведение исследуемых проб сывороток крови и желточной массы составляло 1 : 400. Остальные процедуры постановки ИФА проводили с использованием компонентов «Набора для определения антител к вирусу инфекционного бронхита кур иммуноферментным методом» (ТУ 9388-014-00495527-99) и согласно наставлению по его применению. Для определения оптической плотности растворов в лунках планшета использовали ридер «Microplate Reader MP-6000» фирмы «Meredith Diagnostics» (США).

В табл. 2 приведены показатели, характеризующие динамику изменений оптической плотности проб антител к HBsAg, полученных из сыворотки крови в опытных и контрольной группах перепелов.

По результатам определения показателей, характеризующих динамику изменений оптической плотности проб антител к HBsAg, полученных из сыворотки крови перепелов опытных и контрольной групп, было определено, что стабилизация уровней специфических иммуноглобулинов в сыворотке крови у перепелов опытной группы № 1 происходила к возрасту птиц 114 сут., опытной группы № 2 — 84 сут., так как размах и коэффициент вариации снижались (размах вариации в опытной группе № 1 в 11 раз, коэффициент — в 28 раз, а в опытной группе № 2 — в 11 и 40 раз соответственно). В контрольной группе на протяжении всего периода наблюдений уровни специфических иммуноглобулинов сыворотки крови не изменялись и по абсолютному значению были низкими, что соответствовало фоновым показателям.

Кроме того, для изучения связи между периодом времени, прошедшим с момента иммунизации перепелов, и уровнем содержания специфических к HBsAg IgG в сыворотках крови,

**ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ПРОБ АНТИТЕЛ К HBsAg, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ОПЫТНЫХ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППАХ ПЕРЕПЕЛОВ**

Показатели	Опытная группа № 1		Опытная группа № 2		Контрольная группа	
	34–113	114–134	34–83	84–134	34–103	104–134
Возраст птиц (сут.)	34–113	114–134	34–83	84–134	34–103	104–134
Количество проб, n (шт.)	24	9	15	18	21	12
$\bar{x}$ (о.е.)	0,295	0,771	0,202	0,535	0,063	0,063
S (о.е.)	0,259	0,024	0,152	0,010	0,010	0,009
$x_{\min}$ (о.е.)	0,049	0,748	0,052	0,513	0,042	0,049
$x_{\max}$ (о.е.)	0,751	0,813	0,471	0,551	0,077	0,076
Размах вариаций (о.е.)	0,702	0,065	0,419	0,038	0,035	0,027
Коэффициент вариации, $V_x$ (%)	87,80	3,11	75,25	1,87	15,87	14,29

**ТАБЛИЦА 3. ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ПРОБ АНТИТЕЛ К HBsAg, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЖЕЛТОЧНОЙ МАССЫ В ОПЫТНЫХ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППАХ ПЕРЕПЕЛОВ**

Показатели	Опытная группа № 1		Опытная группа № 2		Контрольная группа	
	84–113	114–134	74–93	94–134	84–113	114–134
Возраст птиц (сут.)	84–113	114–134	74–93	94–134	84–113	114–134
Количество проб, n (шт.)	8	9	4	15	7	9
$\bar{x}$ (о.е.)	0,564	0,751	0,435	0,514	0,065	0,065
S (о.е.)	0,151	0,006	0,081	0,009	0,005	0,006
$x_{\min}$ (о.е.)	0,359	0,742	0,313	0,498	0,059	0,053
$x_{\max}$ (о.е.)	0,731	0,761	0,481	0,529	0,072	0,072
Размах вариаций (о.е.)	0,372	0,019	0,168	0,031	0,013	0,019
Коэффициент вариации, $V_x$ (%)	26,77	0,8	18,62	1,75	7,69	9,23

полученных от иммунизированных перепелов, применяли непараметрические методы проверки статистических гипотез.

Для того чтобы оценить зависимость между двумя переменными, вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ).

Установлено, что с момента иммунизации перепелов (в возрасте 24 сут.) как HBsAg, сорбированным на гидроокиси алюминия и введенного в обратную эмульсию «вода–масло» (до возраста птиц 114 сут.), так и HBsAg, сорбированным на гидроокиси алюминия (до возраста птиц 84 сут.), между возрастом птиц и уровнем содержания специфических к HBsAg IgG в сыворотках крови, полученных от иммунизированных перепелов, имелась прямая ( $r_s > 0,7$ ), статистически значимая ( $p < 0,001$ ) корреляционная связь. У перепелов, иммунизированных HBsAg, сорбированным на гидроокиси алюминия и введенного в обратную эмульсию «вода–масло» (с возраста птиц 114 сут.), и у перепелов, иммунизированных HBsAg, сорбированным на гидроокиси алюминия (с возраста птиц 84 сут.), между возрастом птиц и уровнем содержания специфических к HBsAg IgG в сыворотках крови, была выявлена статистически незначимая корреляционная связь ( $p > 0,05$ ), при этом коэффициент Спирмена составлял  $r_s < 0,3$ , что свидетельствовало о стабилизации уровней IgG в сыворотке крови перепелов опытных групп. В контрольной группе перепелов на протяжении всего периода эксперимента уровни содержания IgG в сыворотке крови находились на уровне фоновых значений ( $r_s < 0,3$ ;  $p > 0,01$ ).

В табл. 3 приведены показатели, характеризующие динамику изменений оптической плотности проб антител к HBsAg, полученных из желточной массы в опытных и контрольной группах перепелов.

По результатам определения показателей, характеризующих динамику изменений оптической плотности проб антител к HBsAg, полученных из желточной массы в опытных и контрольной группах перепелов, установлено, что стабилизация уровней специфических

иммуноглобулинов в желтках яиц перепелов опытной группы № 1 происходила к возрасту птиц 114 сут., опытной группы № 2 — 94 сут., так как размах и коэффициент вариации снижались (размах вариации в опытной группе № 1 в 20 раз, коэффициент — в 33 раза, а в опытной группе № 2 — в 5 и 11 раз соответственно), что подтверждали непараметрические методы проверки статистических гипотез с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена  $r_s$  ( $r_s > 0,7$ ;  $p < 0,001$ ). Между возрастом птиц (опытной группы № 1 со 114 сут., опытной группы № 2 — 94 сут.) и уровнем содержания специфических к HBsAg IgY в желтках яиц отмечалась статистически незначимая корреляционная связь ( $p > 0,05$ ), при этом коэффициент Спирмена составлял  $r_s < 0,3$ , что свидетельствовало о стабилизации уровней IgY в желтках яиц перепелов опытных групп. В контрольной группе на протяжении всего периода наблюдений уровни иммуноглобулинов в желтках яиц не изменялись ( $r_s < 0,3$ ;  $p > 0,01$ ).

Динамика изменений уровней IgY в желтках яиц иммунизированных перепелов соответствовала динамике уровней IgG в сыворотках крови ( $r_s > 0,7$ ;  $p < 0,001$ ), при этом концентрации IgY в желтках яиц достигали уровня специфических IgG в сыворотках крови на 10 сут. позже.

В табл. 4 представлены значения титров специфических иммуноглобулинов в сыворотке крови и желтках яиц опытных групп перепелов после достижения максимальных уровней и их стабилизации.

Из табл. 4 следует, что титры специфических иммуноглобулинов в сыворотке крови и желтках яиц были выше в группе перепелов, иммунизированных HBsAg, сорбированным на гидроокиси алюминия и введенным в обратную эмульсию «вода–масло», и составляли  $1 : 8391 \pm 239,67$  в сыворотке крови и  $1 : 8137 \pm 60,24$  в желтках яиц ( $p < 0,001$ ). В группе перепелов, иммунизированных HBsAg, сорбированным на гидроокиси алюминия, титры составляли  $1 : 5406,72 \pm 59$  и  $1 : 5148,73 \pm 60,80$  соответственно.

**ТАБЛИЦА 4. ТИТРЫ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЖЕЛТКАХ ЯИЦ ОПЫТНЫХ ГРУПП ПЕРЕПЕЛОВ**

Статистические показатели	Титры иммуноглобулинов			
	опытная группа № 1		опытная группа № 2	
	в сыворотке крови (n = 9)	в желтке (n = 9)	в сыворотке крови (n = 18)	в желтке (n = 15)
x	1 : 8391	1 : 8137	1 : 5406,72	1 : 5148,73
S	1 : 311,80	1 : 78,38	1 : 118,64	1 : 109,79
X <sub>min</sub>	1 : 8091	1 : 8017	1 : 5152	1 : 4955
X <sub>max</sub>	1 : 8933	1 : 8260	1 : 5585	1 : 5346
t·m <sub>x</sub>	1 : 239,67	1 : 60,24	1 : 59,00	1 : 60,80

## Обсуждение

В качестве оптимальной биологической модели для получения диагностических иммуноглобулинов для индикации HBsAg целесообразно рассматривать птиц. Во-первых, птицы эволюционно представляют собой отдельную ветвь развития, что снижает риск возможных возникновений неспецифических взаимодействий в иммуносерологических реакциях между иммуноглобулинами птиц и используемым диагностируемым биологическим материалом (кровью, сывороткой крови и т.д.), полученным от человека. Во-вторых, получение яиц, которые содержат специфические иммуноглобулины, от иммунизированных птиц является физиологичным и неинвазивным. В-третьих, у птиц возможно поддержание статуса SPF. В-четвертых, некоторые виды птиц обладают круглогодичной яйценоскостью (до 300 яиц в год), что позволяет получать большое количество диагностических иммуноглобулинов. Среди сельскохозяйственных видов птиц наиболее рентабельными являются перепела (*Coturnix coturnix japonica*) [18].

## Выводы

В качестве нового рентабельного источника диагностических иммуноглобулинов для индикации HBsAg целесообразно рассматривать желтки яиц иммунизированных перепелов. Более эффективной является иммунизация перепелов HBsAg, сорбированным на гидроокиси алюминия и введенным в обратную эмульсию «вода–масло», так как титры иммуноглобулинов достигали более высоких значений, чем при иммунизации HBsAg, сорбированным на гидроокиси алюминия, и составляли около 1 : 8400 в сыворотке крови и 1 : 8100 в желтках яиц иммунизированных перепелов.

## Список литературы

- ГОСТ Р 50258-92. Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия. — Введ. 1994-01-01. — М.: Изд-во стандартов, 1992. — 8 с.
- ГОСТ Р 52249-2004. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. — Введ. 2005-01-01. — М.: Изд-во стандартов, 2004. — 100 с.
- ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения. — Введ. 2002-11-01. — М.: Изд-во стандартов, 2002. — 32 с.
- Джавадов Э.Д., Сбойчаков В.Б., Борисенко С.В., Дубовой А.С., Сокурова А.М. и др. Создание биологической модели для получения диагностических иммуноглобулинов: Метод. рекомендации. — М.: Россельхозакадемия, 2009. — 16 с.
- Зеленский В.П., Воронин Е.С., Коровин Р.Н., Перова Г.К., Зарецкая Л.И., Шубин Н.С., Бикарюков А.А., Попова Л.С., Поляков А.А., Пугай Б.Н., Франгулян К.Ш., Казанков И.Н., Прыкина Т.В., Борисенко С.В., Оганесян В.А., Корнильева А.Г., Метсанурк И.Х., Мануйлова Н.В., Семенов О.А., Васильева Т.А., Рябов Ю.М. Селекция яичных кур на устойчивость к лейкозу и способы содержания японских перепелов, используемых для получения инкубационных яиц и эмбрионов, свободных от специфических возбудителей (методические рекомендации). — М.: ВАСХНИЛ, 1982. — 22 с.
- Зубов Н.Н., Умаров С.З., Бунин С.А. Математические методы и модели в фармацевтической науке и практике: руководство для провизоров и руководителей фармацевтических предприятий (организаций) / Под ред. А.Б. Белевитина. — СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2008. — 249 с.
- Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — 800 с.
- Клинические рекомендации. Гастроэнтерология / Под ред. В.Т. Ивашкина. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — 208 с.
- Коровин Р.Н., Зеленский В.П., Борисенко С.В., Абдукалыкова С.Т., Пуйдак Ю.А., Парре Ю.Ю. Методические рекомендации по отбору, контролю и эксплуатации СПФ-птицы. — Л.: ВНИВИП, 1989. — 32 с.
- Кусельтан И.В., Мазник А.П., Самсонов К.В. Разработка, изготовление и применение полно-

- рационных гранулированных комбикормов для питания конвенциональных, свободных от патогенной флоры лабораторных животных // Теоретические и практические проблемы гнотобиологии; Под ред. В.П. Шишкова, Ю.Ф. Исакова. — М.: Агропромиздат, 1986. — С. 94–101.
11. О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-ВГС) в сыворотке крови человека: Приказ Минздрава РФ от 21.10.2002 г. № 322. — М.: Минздрав РФ, 2002. — 8 с.
  12. Пелконен К. Применение концепции SPF в конструировании помещений для лабораторных животных // Современные методы в выращивании и содержании лабораторных животных: Мат. симпозиума 11 мая 1988 г. — М.: 1988. — С. 22–27.
  13. Пигарева М.Д. Разведение перепелов. — М.: Россельхозиздат, 1978. — 79 с.
  14. Правила бактериологического исследования кормов: утв. Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 10 июня 1975 г. — М.: Министерство сельского хозяйства, 1975. — 10 с.
  15. Реброва О.Ю. Описание процедуры и результатов статистического анализа медицинских данных в научных публикациях. Часть I. Описание статистического анализа в разделе «Материалы и методы». Представление данных в разделе «Результаты» // Междунар. журн. мед. практики. — 2000. — № 4. — С. 43–45.
  16. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных: Национальный научно-исследовательский совет. Комиссия по наукам о жизни. Институт ресурсов лабораторных животных: Russian Version. — Washington: National Academy Press, 1996. — 138 с.
  17. Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) № 1045-73 (Утверждены Главным санитарным врачом СССР 06 апреля 1973 г.). — М.: Минздрав СССР, 1973. — 13 с.
  18. Сокурова А.М., Сбойчаков В.Б., Борисенко С.В. Экономическое обоснование разработки тест-системы для диагностики вирусного гепатита В на основе желточных иммуноглобулинов иммунизированных перепелов // Экономика, менеджмент и маркетинг в военном и гражданском здравоохранении. — Материалы Рос. науч. конф. — СПб.: ВМА, 2009. — С. 68–70.
  19. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. — 2-е изд., доп. — СПб.: ВМедА, 2005. — 292 с.
  20. Benedict A.A. Avian immunology. — New York: Plenum press, 1977. — 407 p.
  21. Gallego M., Cacho E. del, Felices C., Bascuas J.A. Immunoglobulin classes synthesized by the chicken Harderian gland after local immunization // Res. Vet. Sci. — 1992. — Vol. 52, N 1. — P. 44–47.
  22. Patterson R., Youngner J.S., Weigle W.O., Dixon F.J. The metabolism of serum proteins in the hen and chick and secretion of serum proteins by the ovary of the hen // J. Gen. Physiol. — 1962. — Vol. 45, N 3. — P. 501–513.



**Рисунок. Иммунизация перепелов**