

УДК 636.5.034

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-346-3-30-33>

Оригинальное исследование/Original research

**Федорова Е.С.,
Станишевская О.И.**

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» (ВНИГРЖ), 196601, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, Московское шоссе, д. 55а

E-mail: olgastan@list.ru, Osot2005@yandex.ru

Ключевые слова: куры, эмбрионы кур, вакцинное сырье, титр вакцинного вируса, селекция, генофонд

Для цитирования: Федорова Е.С., Станишевская О.И. Оценка кур генофондных пород и промышленных линий по выходу вакцинного сырья их эмбрионов в сравнительном аспекте. *Аграрная наука*. 2021; 346 (3): 30–33.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-346-3-30-33>

Конфликт интересов отсутствует

**Elena S. Fedorova,
Olga I. Stanishevskaya**

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry (RRIFAGB), 196601, St. Petersburg, Pushkin, Moscow highway, 55a

Key words: chickens, chicken embryos, vaccine raw materials, vaccine virus titer, selection, gene pool

For citation: Fedorova E.S., Stanishevskaya O.I. Evaluation of chickens of gene pool breeds and commercial lines on the yield of vaccine raw materials of their embryos in a comparative aspect. *Agrarian Science*. 2021; 346 (3): 30–33. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-346-3-30-33>

There is no conflict of interests

Оценка кур генофондных пород и промышленных линий по выходу вакцинного сырья их эмбрионов в сравнительном аспекте

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Создание отечественных специализированных популяций птицы для производства эмбриональных вирусных вакцин является чрезвычайно актуальной задачей в связи со взятым Россией курсом на импортозамещение фармакологических препаратов, включая вакцины.

Материалы и методы. Исследования по изучению уровня выхода вакцинного сырья и его биологической активности проведены во ВНИГРЖ на курах специализированной (для получения вакцинного сырья) популяции, полученной на основе русской белой породы, ранее отобранной на терморезистентность в условиях пониженных температур, а также на устойчивость к заболеваниям лейкозно-саркомного комплекса.

Результаты. Установлено, что куры генофондных пород (русская белая и амрокс) превосходят кур промышленных линий по качеству и объему вакцинного сырья в расчете на 1 яйцо. Наилучшие показатели выхода вакцинного сырья, а также его биологической активности были получены на курах популяции русской белой селекции ВНИГРЖ. Биологическая активность вируса ($\lg \text{см}^3 \text{ЭИД}_{50}$) болезни Нью-Касла у эмбрионов русской белой была на 12,5% выше, чем у эмбрионов промышленных линий СП-9 (СП-789) и CD (Lohmann LSL) ($P < 0,001$). В сравнении с эмбрионами амрокс биологическая активность вируса болезни инфекционного бронхита птиц и реовирусной инфекции у эмбрионов русской белой породы была выше на 14 и 8% соответственно. Единица объема (см^3) экстраэмбриональной жидкости эмбрионов русской белой содержала в 16 и 32 раза больше доз вируса (ЭИД_{50}) болезни Нью-Касла в сравнении с промышленными линиями СП-9 и CD соответственно. Проведенные вирусологические исследования позволяют рекомендовать эмбрионы кур данной популяции для использования в производстве ряда живых и инактивированных вирусных вакцин (болезнь Нью-Касла, инфекционный бронхит, реовирусная инфекция) и диагностикумов (инфекционный бронхит, реовирусная инфекция).

Evaluation of chickens of gene pool breeds and commercial lines on the yield of vaccine raw materials of their embryos in a comparative aspect

ABSTRACT

Background. The creation of domestic specialized poultry populations for the production of embryonic viral vaccines is an extremely urgent task in connection with Russia's policy of import substitution of pharmacological drugs, including vaccines.

Materials and methods. The level of yield of vaccine raw materials and its biological activity was studied in RRIFAGB on chickens of the Russian white population. This population is specialized (for the production of vaccine raw materials) and was selected for thermal resistance at low temperatures, as well as for resistance to diseases of the leukosis-sarcoma complex.

Results. It was found that the chickens of gene pool breeds (Russian white and Amrox) are superior to the chickens of commercial lines in terms of the quality and volume of vaccine raw materials per 1 egg. The best indicators of the yield of vaccine raw materials, as well as its biological activity, were obtained on the chickens of the Russian white population of the RRIFAGB selection. The biological activity of the New Castle disease virus ($\lg \text{cm}^3 \text{EID}_{50}$) in the Russian white embryos was 12.5% higher than in the embryos of the commercial egg lines SP-9 (SP-789) and CD (Lohmann LSL) ($P < 0.001$). In comparison with Amrox embryos, the biological activity of avian infectious bronchitis disease virus and reovirus infection in Russian white breed embryos was 14% and 8% higher respectively. The unit volume (cm^3) of extraembryonic fluid of Russian white embryos contained 16 and 32 times more doses of New Castle disease virus (EID_{50}) compared to the commercial lines SP-9 and CD respectively. The conducted virological studies allow us to recommend chicken embryos of this population for use in the production of a number of live and inactivated viral vaccines (New Castle disease, infectious bronchitis, reovirus infection) and diagnostics (infectious bronchitis, reovirus infection).

Поступила: 2 февраля
После доработки: 9 марта
Принята к публикации: 10 марта

Received: 2 February
Revised: 9 March
Accepted: 10 March

Введение

Эпизоотическая обстановка в животноводческой сфере усложняется с каждым годом не только в России, но и в мире в целом и, соответственно, возрастает потребность в вакцинах. Современными тенденциями развития мировой фармацевтической промышленности являются разработка и выпуск вакцин нового поколения, полученных с использованием генетически модифицированных клеточных культур, коротких пептидных вакцин, ДНК-вакцин и др. Но, тем не менее, для производства целого ряда вакцин и диагностикумов для животных и человека использование развивающихся куриных эмбрионов (РЭК) является незаменимым [1]. Наилучшим сырьем для производства эмбриональных вирусных вакцин являются SPF-яйца (Specific Pathogene Free — свободные от специфических патогенов), но их использование сопряжено с рядом ограничений, главным из которых является их высокая стоимость (12–14 USD за десяток), а также пониженные показатели оплодотворенности [1]. Они производятся в условиях строгой изоляции при полном отсутствии вакцинации птицы и не содержат антигенов и антител против 18 агентов, список которых представлен в Европейской фармакопее [1].

При производстве ряда вакцин также успешно используются «чистые» яйца (полученные при «щадящей» схеме вакцинации), основным источником которых в России, как правило, служат куры яичных линий промышленного кроссов и, в незначительной степени, куры генофондных пород (по результатам проведенного нами мониторинга российских цен на инкубационное яйцо для биопромышленности стоимость «чистых» яиц составляет 1,3–1,7 USD за десяток, что на порядок дешевле SPF-яйц). Вакцины, которые выпускаются отечественными производителями, изготовлены с использованием штаммов вирусов и микроорганизмов, которые

циркулируют именно в России. Поэтому такие вакцины лучше адаптированы к российским условиям.

Необходимо отметить, что обязательным условием использования «чистых» яиц при производстве живых эмбриональных вирусных вакцин является отсутствие контаминации их вирусами лейкоза [2]. Согласно литературным данным, в 90% обследованных российских птицеводческих хозяйств были выявлены антитела к вирусу лейкоза птиц, а в 70% хозяйств как яичного, так и мясного направления — антитела к вирусу лейкоза подгруппы J [3]. Исследованиями других авторов [4] было также установлено, что вирус лейкоза подгруппы K уже распространился за пределы стран Азии и был обнаружен на птицефабриках в ряде регионов России.

Поэтому создание отечественных специализированных популяций птицы для использования в биопромышленности и производства «чистого» яйца является чрезвычайно актуальной задачей. В качестве основы для создания таких популяций могла бы быть более широко задействована птица генофондных пород.

Во ВНИИГРЖ на протяжении ряда лет проводится селекционная работа по созданию подобной популяции на основе кур русской белой породы [5], отселекционированных на терморезистентность в условиях пониженных температур [6, 7], а также на устойчивость к заболеваниям лейкозно-саркомного комплекса [8]. Нашими исследованиями прежних лет установлено, что в сравнении с курами других генофондных пород и промышленных линий куры популяции русская белая селекции ВНИИГРЖ также обладают более высоким выходом вакцинного сырья (аллантоисно-амниотической жидкости их эмбрионов) и титром вакцинного вируса болезни Нью-Касла в ней [9].

Целью наших исследований было изучить уровень выхода вакцинного сырья и биологическую активность вирусов ряда заболеваний (болезни Нью-Касла, ин-

Таблица 1. Результаты вирусологических исследований по выходу экстраэмбриональной жидкости и определению биологической активности вирусов болезни Нью-Касла, инфекционного бронхита и реовирусной инфекции у развивающихся эмбрионов русских белых кур в сравнительном аспекте

Table 1. The results of virological studies on the release of extraembryonic fluid and the determination of the biological activity of viruses of New Castle disease, infectious bronchitis and reovirus infection in developing embryos of Russian white chickens in a comparative aspect

Болезнь	Достаточная биологическая активность вирусосодержащего материала, идущего на составление серии инактивированной вакцины (ВНИВИП), Ig см ³ ЭИД ₅₀	Амрокс	Русская белая	Линия CD кросса Lohmann LSL [9]	Линия СП-9 кросса СП-789 [10]
Яйц, шт.		30	50	30	30
Болезнь Нью-Касла (штамм «Ла-Сота») (10-суточные эмбрионы): — мл жидкости; — мл/г массы яйца — титр вируса, ЭИД ₅₀ , Ig см ³ ; — количество доз вируса в см ³	10,3 9,0 (живые вакцины)	9,4 ^a ± 0,3 0,206 ^d ± 0,007 10,31 ^a ± 0,15 2,0 × 10 ¹⁰	11,3 ^b ± 0,2 0,227 ^a ± 0,005 10,51 ^a ± 0,17 3,2 × 10 ¹⁰	9,3 ^a ± 0,2 0,157 ^b ± 0,004 9,0 ^b ± 0,21 0,1 × 10 ¹⁰	11,5 ^b ± 0,2 0,184 ^c ± 0,007 9,2 ^b ± 0,28 0,2 × 10 ¹⁰
Инфекционный бронхит кур (штамм «4/91») (9-суточные эмбрионы): — мл жидкости; — мл/г массы яйца; — титр вируса, ЭИД ₅₀ , Ig см ³ ; — количество доз вируса в см ³	7,2	7,2 ± 0,2 0,149 ± 0,007 6,21 ^a ± 0,14 1,6 × 10 ⁶	7,2 ± 0,3 0,142 ± 0,006 7,21 ^b ± 0,15 16,2 × 10 ⁶		
Реовирусная инфекция (штамм «1133»): — титр вируса, ЭИД ₅₀ , Ig см ³ ; — количество доз вируса в см ³	7,5 7,0 (живые вакцины)	7,0 ^a ± 0,21 1,0 × 10 ⁷	7,6 ^d ± 0,20 4,0 × 10 ⁷		

Различия статистически значимы: ab, ac, bd при $p < 0,001$; bc при $p < 0,01$; ad, cd при $p < 0,05$.

Таблица 2. Сравнительный расчетный валовый выход вакцинного сырья (экстраэмбриональной жидкости) и общего количества доз вируса болезни Нью-Касла в нем у кур породы русская белая селекции ВНИИГРЖ в сравнительном аспекте за 60 недель жизни

Table 2. Comparative calculated gross yield of vaccine raw materials (extraembryonic fluid) and the total number of doses of the New Castle disease virus in it in chickens of the Russian white population of the RRIFAGB selection in a comparative aspect for 60 weeks of life

Показатель	Русская белая ВНИИГРЖ	Амрокс	Линия CD (Lohmann LSL)
Яиц за 60 нед. жизни, шт.	200	160	245
Экстраэмбриональная жидкость, мл/60 нед. жизни	2268	1504	2279
Количество доз вируса (ЭИД ₅₀) за 60 нед. жизни	7232×10 ¹⁰	3008×10 ¹⁰	228×10 ¹⁰

фекционного бронхита, реовирусной инфекции) в нем у эмбрионов кур специализированной популяции, созданной во ВНИИГРЖ на основе русской белой породы, в сравнении с генофондной породой амрокс и птицей промышленных яичных линий.

Методика

Исследования проводились на курах (*Gallus gallus domesticus*) пород русская белая и амрокс (возраст 46 недель жизни, по 30–50 шт. яиц от породы), разводимых в «Генетической коллекции редких и исчезающих пород кур» ВНИИГРЖ. Куры содержались в индивидуальных клетках, с индивидуальным учетом яичной продуктивности при искусственном осеменении и принятой в хозяйстве технологии кормления и содержания. Данные по птице промышленных яичных линий сопоставимых по возрасту кур взяты из литературных источников [9, 10].

Объем аллантаисно-амниотической жидкости и титр вакцинного вируса к болезни Нью-Касла (штамм «Ла-Сота»), реовирусной инфекции (штамм 1133) и инфекционному бронхиту кур (штамм 4/91) определяли в ФГБНУ ФНЦ «ВНИТИП» РАН (филиал «ВНИИП») методом титрования вирусосодержащей жидкости. Титр вируса определяли по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина. Статистическую обработку результатов осуществляли в программе Microsoft Excel и Statistica 10.0. Определяли средние значения по группам (M) и стандартную ошибку средних (\pm SEM). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В результате наших исследований было подтверждено, что развивающиеся эмбрионы русских белых кур селекции ВНИИГРЖ обладают не только высоким выходом экстраэмбриональной жидкости, но также значительным уровнем ее биологической активности.

По результатам вирусологических исследований установлено, что эмбрионы кур популяции русская белая ВНИИГРЖ превосходят по показателям относительного объема экстраэмбриональной жидкости (мл/г массы яйца), а также титру вакцинного вируса в ней (lg см³ ЭИД₅₀) кур породы амрокс и материнских родитель-

ских линий кроссов СП-789 (СП-9) и Lohmann LSL (CD) (табл. 1). Единица объема (см³) экстраэмбриональной жидкости эмбрионов русской белой содержала в 16 и 32 раза больше доз вируса (ЭИД₅₀) болезни Нью-Касла в сравнении с линиями СП-9 и CD соответственно, а в сравнении с эмбрионами амрокс — в 10 раз больше доз вируса инфекционного бронхита и в 4 раза больше — реовирусной инфекции.

Биологическая активность вируса (lg см³ ЭИД₅₀) болезни Нью-Касла у эмбрионов русской белой была на 2,0% выше, чем у эмбрионов амрокс. и на 12,5% выше, чем у эмбрионов линии СП-9 (СП-789) и CD

(Lohmann LSL) ($P < 0,001$). В сравнении с эмбрионами амрокс биологическая активность вируса болезни инфекционного бронхита птиц и реовирусной инфекции у эмбрионов русской белой породы была выше на 14 и 8% соответственно. Уровень биологической активности вируса болезни Нью-Касла, инфекционного бронхита и реовирусной инфекции у эмбрионов популяции русская белая, по заключению ВНИИП, является достаточным для того, чтобы рекомендовать их для производства как живых, так и инактивированных вакцин.

Как видно из табл. 2, куры промышленных линий превосходят кур популяции русская белая селекции ВНИИГРЖ и по яйценоскости, и по массе яиц, за счет чего валовый объем получаемого от них вакцинного сырья в среднем на 0,5% выше. Но при этом число доз вакцинного вируса, получаемых от русских белых кур селекции ВНИИГРЖ за тот же период, в 32 раза выше, чем от кур промышленных линий.

При тестировании развивающихся эмбрионов популяции русская белая селекции ВНИИГРЖ в лаборатории ВНИИП было установлено, что эти эмбрионы, в отличие от эмбрионов промышленных линий кур, успешно могут быть использованы в качестве диагностических в отношении реовирусной инфекции и инфекционного бронхита кур, поскольку обеспечивают стабильные результаты.

Выводы

В результате вирусологических исследований было установлено, что куры генофондных пород превосходят кур промышленных линий по качеству и объему вакцинного сырья в расчете на 1 яйцо. Наилучшие показатели выхода вакцинного сырья были получены на курах популяции русская белая селекции ВНИИГРЖ. Проведенные вирусологические исследования позволяют рекомендовать эмбрионы кур данной популяции для использования в производстве ряда живых и инактивированных вирусных вакцин (болезнь Нью-Касла, инфекционный бронхит, реовирусная инфекция) и диагностикумов (инфекционный бронхит, реовирусная инфекция).

Исследования выполнены по теме гос. задания № 0445-2021-0012

ЛИТЕРАТУРА

1. Seemann, G. Erzeugung und Bedeutung von SPF-Bruteiern (Lohmann information, 3/2005). Режим доступа: http://www.lohmann-information.com/content/l_i_3_05_artikel3.pdf (Дата обращения 26.01.2021).
2. Плотноков В.А., Гребенникова Т.В., Дудникова Е.К., Шульпин М.И., Лазарева С.П., Никонова З.Б., Меньщикова А.Э., Норкина С.Н., Алипер Т.И. О Распространении вируса лейкоза птиц в птицеводческих хозяйствах на территории России. *Сельскохозяйственная биология*. 2013; 6: 36-42. (doi: 10.15389/agrobiology.2013.6.36rus)
3. Бородин А.М., Алексеев Я.И., Коновалова Н.В., Терентьева Е.В., Ефимов Д.Н., Емануйлова Ж.В., Смолов С.В., Огнева О.А., Фисинин В.И. Выявление вируса лейкоза птиц подгруппы К в России и его молекулярно-генетический анализ. *Сельскохозяйственная биология*. 2018; 53(4): 842-850. (doi: 10.15389/agrobiology.2018.4.842rus)
4. Федорова Е.С., Станисhevская О.И., Силюкова Ю.Л. Эффективность селекции кур породы русская белая на повышение выхода вакцинного сырья. *Генетика и разведение животных*. 2018; 3: 46-50.
5. Соколова А. Н. Генетико-селекционные методы создания популяции кур с повышенной устойчивостью к неоплазмам: автореф. дис. ... канд.с.-х. наук. – СПб. – Пушкин: ВНИИГРЖ, 1999. – 56 с.
6. Young, M.; Alders, R.; Grimes, S.; Spradbrow, P.; Dias, P.; da Silva, A.; Lobo Q. *Controlling Newcastle disease in village chickens: a laboratory manual*, ACIAR: Canberra, 2002. – 143 p.
7. Соколова А.Н. Селекция кур по функции терморегуляции и продуктивности. *Мат. XIII Всемирного конгресса по птицеводству*. Киев, 1966: 151-155.
8. Шалкова М.В. Биологические особенности и хозяйственно полезные качества кур, отселекционированных на устойчивость к неоплазмам: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – СПб - Пушкин: ВНИИГРЖ, 2000. - 102 с.
9. Лапа М.А. Критерии оценки и отбора птицы с целью повышения пищевых и биотехнологических качеств яиц: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – СПб - Пушкин: ВНИИГРЖ, 2015. - 23 с.
10. Тяпугин Е.Е. Оценка и отбор яичных кур по показателям эмбрионального развития: автореф. дис. ...канд. биол. наук. - Дубровицы: ГНУ ВИЖ, 2013. - 22 с.

ОБ АВТОРАХ:

Федорова Елена Сергеевна, канд. биол. наук, ст. научн. сотр. отдела генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц

Станисhevская Ольга Игоревна, доктор биол. наук, зав. отделом генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц

REFERENCES

1. Seemann, G. Erzeugung und Bedeutung von SPF-Bruteiern (Lohmann information, 3/2005). URL: http://www.lohmann-information.com/content/l_i_3_05_artikel3.pdf (Accessed 26.01.2021).
2. Plotnikov V.A., Grebennikova T.V., Dudnikova E.K., Shulpin M.I., Lazareva S.P., Nikonova Z.B., Menshikova A.E., Norkina S.N., Alipe T.I. About spreading the avian leukosis viruses in poultry farms in Russian Federation. *Agricultural Biology*. 2013; 6: 36-42. (doi: 10.15389/agrobiology.2013.6.36rus)
3. Borodin A.M., Alekseev Ya.I., Konvalova N.V., Terentyeva E.V., Efimov D.N., Emanuilova Zh.V., Smolov S.V., Ogneva O.A., Fisinin V.I. Detection of avian leukemia virus subgroup k in Russia and its molecular genetic analysis. *Agricultural Biology*. 2018; 53(4): 842-850. (doi: 10.15389/agrobiology.2018.4.842rus)
4. Fedorova E.S., Stanishvskaya O.I., Silyukova Y.L. Efficiency of Russian white chickens selection as a way to increase vaccine raw material output. *Genetics and breeding of animals*. 2018; 3: 46-50.
5. Sokolova, A.N. Genetiko-Selekcionny'e Metody' Sozdaniya Populyacii Kur s Povy'shennoj Ustojchivost'yu k Neoplazmam: PhD Thesis. - St.Petersburg – Pushkin: All-Russian Research Institute for Genetics and Farm Animal Breeding, 1999. – 56 p.
6. Young, M.; Alders, R.; Grimes, S.; Spradbrow, P.; Dias, P.; da Silva, A.; Lobo Q. *Controlling Newcastle disease in village chickens: a laboratory manual*, ACIAR: Canberra, 2002. - 143 p.
7. Sokolova, A.N. *Selekcija Kur po Funkcii Termoregulyacii i Produktivnosti*. Proceedings of the 13th World's Poultry Science Congress, Kiev, USSR, 1966, pp. 151 – 155.
8. Shalkova, M.V. Biologicheskie Osobennosti i Khozyajstvenno Polezny'e Kachestva Kur, Otselekcionirovanny'x na Ustojchivost' k Neoplazmam: PhD Thesis. - St.Petersburg - Pushkin: All-Russian Research Institute for Farm Animal Genetics and Breeding, 2000. - 102 p.
9. Lapa, M.A. Kriterii Ocenki i Otbor Ptic s Cel'yu Povy'sheniya Pishhev'y'x i Biotekhnologicheskix Kachestv Yaicz: PhD Thesis. - St.Petersburg - Pushkin: All-Russian Research Institute for Farm Animal Genetics and Breeding, 2015. - 23 p.
10. Tyapugin, E.E. Ocenka i Otbor Yaichny'x Kur po Pokazatelyam E'mbrional'nogo Razvitiya: PhD Thesis. - Federal State Budget Scientific Institution «Federal Scientific Center for Livestock - VIZH named after Academician L.K. Ernst»: Dubrovicy, 2013. - 22 p.

ABOUT THE AUTHORS:

Fedorova Elena Sergeevna, PhD, senior researcher of Department of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds

Stanishvskaya Olga Igorevna, Dr.Habil.(biology), Head of Department of genetics, breeding and conservation of genetic resources of farm birds

НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ •

Аналитики прогнозируют снижение цен на продукцию птицеводства в России

Полное восстановление производства в отрасли птицеводства, по данным Министерства сельского хозяйства РФ, произойдет в начале мая и будет дополнительно способствовать стабилизации цен. С прогнозом аналитиков Минсельхоза России согласен гендиректор Национального союза птицеводов Сергей Лахтюхов. По его мнению, в апреле-мае объемы производства в птицеводческой отрасли не просто стабилизируются, а даже начнут расти. «Соответственно, рынок начнет насыщаться, и, опять же, как следствие, возможно, мы даже увидим снижение цен», – отметил Сергей Лахтюхов.

