



# Иммунобиологические свойства инактивированных вакцин против высокопатогенного гриппа птиц, изготовленных на основе антигенов штаммов вируса гриппа подтипа А/Н5N1 различной вирулентности

С. В. Фролов<sup>1</sup>, И. А. Чвала<sup>2</sup>, Н. В. Мороз<sup>3</sup>, В. Ю. Кулаков<sup>4</sup>, В. Ю. Сосипаторова<sup>5</sup>, Д. Б. Андрейчук<sup>6</sup>

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6802-9940>, e-mail: frolov@arriah.ru

<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, e-mail: chvala@arriah.ru

<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9672-8594>, e-mail: moroz@arriah.ru

<sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1898-4576>, e-mail: kulakov@arriah.ru

<sup>5</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9376-4728>, e-mail: sosipatorova@arriah.ru

<sup>6</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1681-5795>, e-mail: andreychuk@arriah.ru

## РЕЗЮМЕ

Антиген вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма «Ямал» в составе инактивированной эмульгированной вакцины способен индуцировать выработку напряженного иммунитета у кур против высокопатогенного гриппа птиц. Инактивированные эмульсионные вакцины на основе антигена вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма «Ямал» и антигена вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма A/chicken/Primorsky/85/08 способны вызывать дозозависимый перекрестный иммунитет в отношении актуальных вирусов высокопатогенного гриппа птиц подтипов H5N1 и H5N8. Так, для защиты 95% вакцинированной птицы прививная доза антигена вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма «Ямал» против вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма A/chicken/Primorsky/85/08 в прививном объеме вакцины должна составлять не менее 609 ГАЕ и против вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N8 штамма A/duck/KChR/1590-20/20 – 255 ГАЕ. Аналогичный показатель, установленный для антигена вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма A/chicken/Primorsky/85/08 против вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N8 штамма A/duck/KChR/1590-20/20, должен составлять не менее 294 ГАЕ. Протективный эффект испытанных инактивированных вакцин связан с напряженностью гуморального иммунитета птицы. Прогнозируемый титр антител к гомологичным антигенам, при котором ожидаемая защита вакцинированной птицы достигнет 95%, составил величину 1:538, или 9,1 log<sub>2</sub>. Инактивированная вакцина против гриппа птиц H5 на основе антигена вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма «Ямал» обладает высокой иммуногенной активностью и защищает птиц при заражении вирусом высокопатогенного гриппа птиц подтипов H5N1 и H5N8.

**Ключевые слова:** инактивированная вакцина, антиген вируса низкопатогенного гриппа птиц, иммунитет, протективный титр антител, высокопатогенный грипп птиц подтипа H5

**Благодарность:** Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие».

**Для цитирования:** Фролов С. В., Чвала И. А., Мороз Н. В., Кулаков В. Ю., Сосипаторова В. Ю., Андрейчук Д. Б. Иммунобиологические свойства инактивированных вакцин против высокопатогенного гриппа птиц, изготовленных на основе антигенов штаммов вируса гриппа подтипа А/Н5N1 различной вирулентности. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 367–374. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-367-374.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Мороз Наталья Владимировна, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по производству, ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: moroz@arriah.ru.

## Immunobiological properties of inactivated anti-highly pathogenic avian influenza vaccines based on antigens of A/H5N1 avian influenza virus strains of different virulence

S. V. Frolov<sup>1</sup>, I. A. Chvala<sup>2</sup>, N. V. Moroz<sup>3</sup>, V. Yu. Kulakov<sup>4</sup>, V. Yu. Sosipatorova<sup>5</sup>, D. B. Andreychuk<sup>6</sup>

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6802-9940>, e-mail: frolov@arriah.ru

<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, e-mail: chvala@arriah.ru

<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9672-8594>, e-mail: moroz@arriah.ru

© Фролов С. В., Чвала И. А., Мороз Н. В., Кулаков В. Ю., Сосипаторова В. Ю., Андрейчук Д. Б., 2022

<sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1898-4576>, e-mail: kulakov@arriah.ru

<sup>5</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9376-4728>, e-mail: sosipatorova@arriah.ru

<sup>6</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1681-5795>, e-mail: andreychuk@arriah.ru

## SUMMARY

Antigen of H5N1 low pathogenic avian influenza virus Yamal strain included in the inactivated emulsion vaccine is able to induce strong immunity against highly pathogenic avian influenza in chickens. Inactivated emulsion vaccines based on antigen of H5N1 low pathogenic avian influenza virus Yamal strain and antigen of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus A/chicken/Primorsky/85/08 strain are capable of inducing dose-dependent cross immunity against current H5N1 and H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses. Thus, inoculation dose of H5N1 low pathogenic avian influenza virus Yamal strain antigen required for protection of 95% of chickens against H5N1 highly pathogenic avian influenza virus A/chicken/Primorsky/85/08 strain and against H5N8 highly pathogenic avian influenza virus A/duck/KChR/1590-20/20 in the vaccine inoculation volume shall be at least 609 HAU and 255 HAU, respectively. The inoculation dose of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus A/chicken/Primorsky/85/08 strain antigen for protection from H5N8 highly pathogenic avian influenza virus A/duck/KChR/1590-20/20 strain shall be at least 294 HAU. Protective effect of the tested inactivated vaccines was associated with humoral immunity level in poultry. Predicted titre of antibodies to homologous virus antigens conferring expected 95% protection of vaccinated poultry was 1:538 or 9.1 log<sub>2</sub>. Inactivated vaccine based on H5N1 low pathogenic avian influenza virus Yamal strain antigen demonstrates its high immunogenicity in chickens infected with H5N1 and H5N8 highly pathogenic avian influenza influenza virus.

**Keywords:** inactivated vaccine, low pathogenic avian influenza (LPAI) virus antigen, immunity, protective antibody titre, H5 highly pathogenic avian influenza (HPAI)

**Acknowledgements:** The study was funded by the FGBI "ARRIAH" within the framework of "Veterinary Welfare" research work.

**For citation:** Frolov S. V., Chvala I. A., Moroz N. V., Kulakov V. Yu., Sosipatorova V. Yu., Andreychuk D. B. Immunobiological properties of inactivated anti-highly pathogenic avian influenza vaccines based on antigens of A/H5N1 avian influenza virus strains of different virulence. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 367–374. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-367-374.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**For correspondence:** Natalya V. Moroz, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Production, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: moroz@arriah.ru.

## ВВЕДЕНИЕ

Возбудителем высокопатогенного гриппа птиц (ВГП) является РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Orthomyxoviridae*, роду *Alphainfluenzavirus*, а также его серотипы H5 и H7 независимо от их патогенности. Обладая фрагментированным геномом, агент способен к многообразным генетическим перестройкам, которые на уровне фенотипа проявляются изменениями как антигенных, так и вирулентных свойств. Иные подтипы вируса вызывают низкопатогенный грипп птиц (НГП), не подлежащий уведомлению Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ) [1].

Вирус гриппа А отличается высокой степенью варибельности, особенно это касается поверхностных гликопротеинов вириона: HA и NA. Установлено, что антитела хозяина к HA и NA обеспечивают основу гуморального иммунитета, при этом ведущую роль играют протективные антитела к HA. Известно 18 антигенных подтипов HA (H1–H18) и 11 подтипов NA (N1–N11). Вирус гриппа обладает сегментированным геномом, состоящим из 8 сегментов, которые обладают высокой способностью к реассортации [2, 3].

Различные комбинации HA и NA способны привести к появлению высоковирулентных штаммов вируса, становящихся причиной высокого уровня смертности. В настоящее время наблюдается распространение ВГП, вызванного вирусом типа А подтипа H5, на территории Евразии. Считается, что этот подтип является одним из наиболее опасных в плане возникновения пандемий [4].

Вирусы НГП подтипа H5 показывают практически одинаково низкую патогенность в эксперименталь-

ных условиях при тестировании с помощью IVPI (Intravenous Pathogenicity Index), однако в полевых условиях они часто вызывают заболеваемость и смертность от средней до высокой степени [5].

При сравнении выделенных изолятов вируса гриппа птиц обнаруживается чрезвычайно высокая их генетическая и антигенная варибельность. Это обстоятельство вынуждает вести постоянный поиск новых изолятов вируса гриппа птиц, пригодных для изготовления диагностических и вакцинных препаратов [5, 6].

Высокопатогенный грипп птиц протекает в острой и сверхострой формах, вызывая гибель до 100% поголовья, и способен к эпизоотическому распространению.

Значимый экономический ущерб, причиняемый заболеванием, обуславливает необходимость разработок средств специфической профилактики заболевания, и до настоящего времени наиболее эффективными являются инактивированные цельновирионные вакцины [7].

Исследования эффективности инактивированных вакцин на основе как высоко-, так и низкопатогенных вирусов показывают, что их протективная способность зависит от двух (возможно, взаимодополняющих) факторов: антигенного соответствия между заражающим и вакцинным вирусами [8–10] и величины прививной дозы антигена в вакцине [10–13]. При этом использование для производства инактивированных вакцин штаммов вируса ВГП не рекомендуется ВОЗЖ по причине их эпизоотической опасности [1] и в связи с низким накоплением вирусного антигена в системе культивирования [14].

Большинство ученых доказывают, что для эффективной иммунизации против гриппа птиц требуется использовать антигенно родственные вирусы в составе вакцин [7, 15, 16].

Данные научных публикаций по эффективности вакцин в отношении гетерологичных (принадлежащих к разным генетическим линиям в пределах одного подтипа) вирусов носят противоречивый характер. Так, учеными из США с использованием разнообразных методов было установлено, что инактивированные вакцины на основе цельного вируса подтипа H5 на 100% защищали цыплят от гибели при заражении гетерологичными вирулентными вирусами подтипов H5N8 и H5N2 кланды 2.3.4.4 [15].

Основываясь на результатах перекрестной реакции гемагглютинации, другие исследователи установили, что вакцины на основе высоковирулентных вирусов H5N1 обладают разной протективной активностью в отношении вирулентного вируса [16]. Российские ученые указывали, что решающую роль в обеспечении эффективности вакцины играет концентрация антигена вируса гомологичного подтипа, и высоковирулентные вирусы H5 не всегда эффективны в качестве вакцинных штаммов из-за их низкого накопления в системе культивирования [14].

К иммуногенности вакцин против гриппа птиц ВОЗЖ также предъявляет соответствующие требования, главными из которых являются концентрация антигена в прививной дозе и титры поствакцинальных антител. Так, рекомендуемая концентрация антигена в прививной дозе вакцины должна составлять 50 ПД<sub>50</sub> (50%-я протективная доза) или 3 мкг гемагглютинирина [17]. Минимальный титр антигемагглютинирующих антител у цыплят в полевых условиях должен быть 1:32 для защиты птицы от гибели и не ниже 1:128 для обеспечения снижения размножения вирулентного вируса и его выделения во внешнюю среду [1].

Целью настоящей работы являлось изучение иммуногенных свойств инактивированных антигриппозных вакцин на основе разных антигенов против актуальных высоковирулентных вариантов вируса гриппа птиц подтипа H5.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Высоковирулентные штаммы вируса гриппа птиц:* подтип H5N1 A/chicken/Primorsky/85/08, кланды 2.3.2 (в тексте – ВГП H5N1 штамм Приморский); подтип H5N8 A/duck/KChR/1590-20/20, кланды 2.3.4.4 (в тексте – ВГП H5N8 штамм КЧР).

*Низковирулентный штамм вируса гриппа птиц:* производственный штамм «Ямал», подтип H5N1 (в тексте – НГП H5N1 штамм Ямал).

*Вирусные материалы.* Сохраняемые при минус 70 °С образцы вируссодержащей экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) после расплодок на СПФ-эмбрионах кур. Перед использованием в экспериментах ЭЭЖ осветляли центрифугированием при 1000 g.

*Эмбрионы кур.* Использовали развивающиеся 9–11-суточные эмбрионы кур категории СПФ (VALO BioMedia GmbH, Германия).

*Определение инфекционного титра вируса.* Применяли метод последовательных кратных разведений вирусного материала. В качестве чувствительных тест-объектов использовали СПФ-эмбрионы кур. Инфекционный материал вводили в аллантоисную полость.

Величину инфекционного титра вычисляли по Керберу и выражали в ЭИД<sub>50</sub>.

*Вирусные антигены.* Для изготовления антигенов использовали осветленные вирусные материалы штаммов ВГП H5N1 штамм Приморский и НГП H5N1 штамм Ямал, полученные после культивирования в развивающихся куриных эмбрионах, инактивированные аминоэтилэтиленимином (0,25%) в течение 24 ч при температуре 22 °С. Полноту инактивации вируса определяли проведением двух последовательных пассажей на СПФ-эмбрионах кур. Титр антигена определяли в реакции гемагглютинации (РГА) и выражали в гемагглютинирующих единицах (ГАЕ).

*Вакцины.* На основе вирусных антигенов и масляного адьюванта готовили эмульсионные вакцины. Каждый антиген был приготовлен в нескольких разведениях. Масляный адьювант Montanide ISA 70 (SEPPIC, Франция) использовали в соотношении антигенсодержащей фазы и масла 30:70 (по весу). При приготовлении вакцин активный компонент (антиген) объединяли с масляным адьювантом и эмульгировали на высокоскоростном лабораторном эмульсоре Silverson (Великобритания) при скорости 6000 об/мин в течение 5 мин. В результате были получены образцы эмульсионной вакцины с заданной концентрацией антигена.

*Птица.* В эксперименте использовали цыплят яичного кросса ломан браун в возрасте 3–4 недели, серонегативных к вирусу гриппа птиц, из хозяйства, благополучного по острым инфекционным болезням.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014, принятым Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

*Иммунизация птиц.* Каждый образец вакцины (с заданной концентрацией антигена) был введен отдельной группе птиц внутримышечно в объеме 0,5 см<sup>3</sup> в область бедра. Кроме этого, были сформированы контрольные группы невакцинированных птиц.

*Оценка напряженности поствакцинального гуморального иммунитета.* Через 28 сут после вакцинации у иммунизированных и контрольных птиц отбирали пробы крови для получения сывороток, в которых с применением реакции торможения агглютинации (РТГА) определяли титр антител к вирусу гриппа.

*Заражение птиц.* Вирус ВГП в дозе не менее 6,0 Ig вводили вакцинированным и контрольным птицам внутримышечно в объеме 0,5 см<sup>3</sup> в область бедра.

*Оценка протективного эффекта вакцины.* Через 28 сут после иммунизации цыплят всех групп заражали и регистрировали клиническое состояние птиц и летальное действие вируса.

*Реакция гемагглютинации.* Использовали стандартный вариант РГА. В тестируемом материале определяли титр гемагглютинирующих единиц.

*Реакция торможения гемагглютинации.* Использовали стандартный вариант РТГА. Постановку реакции проводили в соответствии с инструкцией к набору для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия). В тестируемой сыворотке

крови определяли титр антител к вирусу гриппа, блокирующих гемагглютинирующий эффект.

**Растворы.** Разведения вирусных материалов и антигенов выполняли на 0,9%-м растворе натрия хлорида (физиологическом растворе). При постановке РГА и РТГА использовали растворы, предусмотренные соответствующими инструкциями.

**Обработка данных.** Использовали стандартные методы статистической обработки выборок варьирующих переменных [18], а также элементы корреляционно-регрессионного анализа [19]. Вычислительные операции и графические построения выполняли с использованием приложения Microsoft Excel.

**План исследований.** Оценивали иммунологические свойства двух инактивированных эмульсионных вакцин:

– вакцина (НП) на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал. Инфекционная активность вирусного материала до инактивации составляла  $9,6 \text{ Ig ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ . Инактивированный материал содержал  $10 \log_2 \text{ ГАЕ}/0,1 \text{ см}^3$  ( $10 \cdot 240 \text{ ГАЕ}/\text{см}^3$ ). Испытывали образцы, имеющие относительную концентрацию антигена (D): 1; 1/25; 1/50 и 1/100;

– вакцина (ВП) на основе антигена вируса ВГП H5N1 штамма Приморский. Инфекционная активность

вирусного материала до инактивации составляла  $9,2 \text{ Ig ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ . Инактивированный материал содержал  $9 \log_2 \text{ ГАЕ}/0,1 \text{ см}^3$  ( $5120 \text{ ГАЕ}/\text{см}^3$ ). Испытывали образцы, приготовленные по аналогии с вакциной НП.

Провели два эксперимента (I, II), в которых исследовали разные комбинации вакцин и вирусов-пробойников.

**Эксперимент I.** Образцами препарата НП, имеющими заданное содержание антигена, иммунизировали четыре группы птиц по 20 гол. в каждой. Группу из 10 гол. не вакцинировали и содержали в качестве контроля. Через 28 сут после вакцинации у всех птиц произвели отбор проб крови и провели контрольное заражение вирусом ВГП H5N1 штамма Приморский в дозе  $6,0 \text{ Ig ЭИД}_{50}$  (вирус-пробойник). В течение 10 сут после контрольного заражения ежедневно проводили клинический осмотр птиц. Регистрировали клиническое проявление гриппа и гибель заболевших особей.

**Эксперимент II.** Образцами препарата НП иммунизировали четыре группы птиц по 9 гол. в каждой. Группу из 10 гол. не вакцинировали и содержали в качестве контроля. Через 28 сут после вакцинации у всех птиц произвели отбор проб крови и провели контрольное заражение вирусом ВГП H5N8 штамма КЧР в дозе  $6,7 \text{ Ig ЭИД}_{50}$  (вирус-пробойник). Дальнейшие процедуры выполняли по аналогии с экспериментом I.

Образцами препарата ВП, имеющими заданное содержание антигена, иммунизировали четыре группы птиц по 10 гол. в каждой. Группу из 10 гол. не вакцинировали и содержали в качестве контроля. Через 28 сут после вакцинации у всех птиц произвели отбор проб крови и провели контрольное заражение вирусом ВГП H5N8 штамма КЧР в дозе  $6,7 \text{ Ig ЭИД}_{50}$  (вирус-пробойник). Дальнейшие процедуры выполняли по аналогии с экспериментом I.

**Иммунизирующая (прививная) доза антигена.** Прививную дозу антигена (А) вычисляли в ГАЕ соответственно доле антигена (1/3) в прививном объеме препарата ( $0,5 \text{ см}^3$ ), его содержанию в исходном материале ( $A_0, \text{ ГАЕ}/0,1 \text{ см}^3$ ) и заданной относительной концентрации (D). Расчет выполняли по формуле  $A = (0,5/3) \times (A_0/D), \text{ ГАЕ}/0,5 \text{ см}^3$ .

**Индексы защиты.** После заражения птиц в опытных и контрольных группах определяли индексы защиты (протективные индексы) вида  $C = pr/n$ , где  $pr$  – количество защищенных (выживших) особей;  $n$  – общее число птиц в данной группе.

**Преобразование индексов защиты.** Приняли, что в данной системе «доза – эффект» точкой симметрии распределения индексов защиты по параметру дозы антигена будет показатель 50%-го протективного эффекта ( $C = 0,5$ ). На этом основании для приближения зависимости к линейному виду использовали логит-преобразование по Берксону [20, с. 267], позволяющее получить линейные эквиваленты индексов защиты вида  $f = \log(C/(1 - C))$ . Для значений  $C = 1$ , установленных для наименьшей испытанной дозы антигена, и значений  $C = 0$ , установленных для наибольшей дозы антигена, использовали условные оценки ' $C_1 = (1 - 1/5n)$ ' и ' $C_0 = 1/5n$ ' [21, с. 246]. Обратное преобразование эквивалентов выполняли по формуле  $C = 1 - 1/(1 + (\text{antilg } f))$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Первичные данные.** Результаты, полученные в экспериментах в виде индексов защиты и соответствующих линейных эквивалентов, объединены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты контрольного заражения птиц вирусом ВГП подтипов H5N1 и H5N8, иммунизированных вакцинами на основе вирусных антигенов НГП H5N1 штамма Ямал и ВГП H5N1 штамма Приморский

Table 1

Results of challenge test of poultry immunized with the vaccines based on H5N1 LPAI virus Yamal strain antigen and based on H5N1 HPAI virus Primorsky strain antigen using H5N1 and H5N8 HPAI virus

Индексы защиты и их линейные эквиваленты, установленные соответственно испытанным прививным дозам иммунизирующего антигена в препарате				
Штамм-пробойник	Иммунизирующий антиген	Разведение антигена (D)	Индекс защиты ( $C = pr/n$ )*	Эквивалент индекса защиты $f = \log(C/(1 - C))$
ВГП H5N1 штамм Приморский	НГП H5N1 штамм Ямал	1	20/20 ( $C_1 = 0,99$ ) <sup>#</sup>	1,996
		1/25	6/20 ( $C = 0,3$ )	-0,368
		1/50	5/20 ( $C = 0,25$ )	-0,477
	Контроль	–	0/10 ( $C = 0$ )	н/о
ВГП H5N8 штамм КЧР	НГП H5N1 штамм Ямал	1	9/9 ( $C = 0,98$ )	1,690
		1/25	9/9 ( $C = 0,98$ )	1,690
		1/50	6/9 ( $C = 0,67$ )	0,308
	1/100	5/9 ( $C = 0,56$ )	0,105	
Контроль	–	0/10 ( $C = 0$ )	н/о	
ВГП H5N8 штамм КЧР	ВГП H5N1 штамм Приморский	1	10/10 ( $C = 0,98$ ) <sup>#</sup>	1,690
		1/25	8/10 ( $C = 0,80$ )	0,602
		1/50	4/10 ( $C = 0,40$ )	-0,176
	1/100	2/10 ( $C = 0,20$ )	-0,602	
Контроль	–	0/10 ( $C = 0$ )	н/о	

\*  $C = pr/n$ , где  $pr$  – количество защищенных (выживших) особей;

$n$  – общее число птиц в данной группе; <sup>#</sup> условная оценка ' $C_1 = (1 - 1/5n)$ '.

\*  $C = pr/n$ , where  $pr$  – number of protected (survived) poultry;

$n$  – total number of poultry in group; <sup>#</sup> estimate ' $C_1 = (1 - 1/5n)$ '.

Анализ зависимости оценок иммунной защиты птиц от величины разведения антигена. Исследовали связь между логарифмическими показателями испытанных разведений антигенов в составе вакцин (lgD) и эквивалентами индексов защиты (f). Провели регрессионный анализ, задачей которого являлось построение модели,

позволяющей прогнозировать значение "f для задаваемой величины lgD. Расчеты и графические построения выполняли с использованием приложения Excel.

Приведенные на рисунке 1 регрессионные уравнения были использованы для вычисления концентраций антигенов (разведений  $D_0$ ), которые при данных

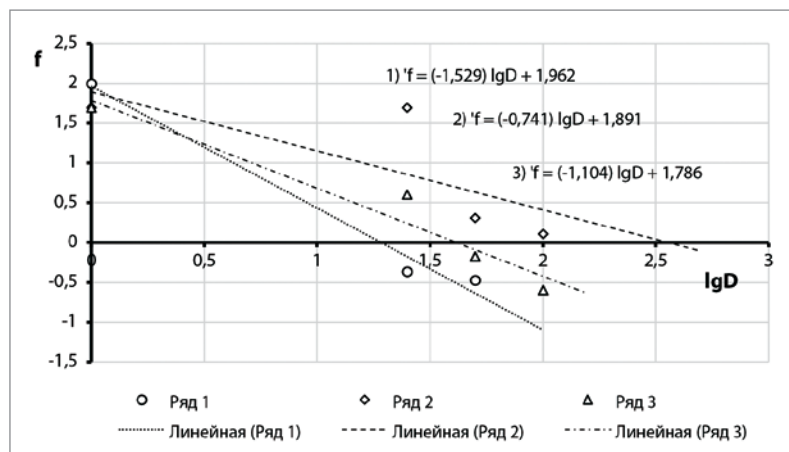


Рис. 1. Зависимость между испытанными разведениями антигенов (lgD) в составе вакцин и эквивалентами индекса защиты (f) иммунизированных птиц, установленных после контрольного заражения

Ось ординат пересечена в точке  $f = 0$ , соответствующей  $C = 0,5$ , т. е. 50% защиты. Показано положение экспериментальных оценок  $f$  по lgD. Приведены регрессионные уравнения вида  $f = k (lgD) - B$ , где  $f$  – ожидаемая величина эквивалента индекса защиты для заданного значения lgD;  $k$  и  $B$  – регрессионные коэффициенты. Показаны комбинации:

- 1) антиген НГП H5N1 штамм Ямал × вирус ВГП H5N1 штамм Приморский;
- 2) антиген НГП H5N1 штамм Ямал × вирус ВГП H5N8 штамм КЧР;
- 3) антиген ВГП H5N1 штамм Приморский × вирус ВГП H5N8 штамм КЧР.

Fig. 1. Relationship between tested antigen dilutions (lgD) included in the vaccines and protection index equivalents (f) of immunized poultry determined after challenge

The ordinate axis is crossed at the point  $f = 0$ , corresponding to  $C = 0,5$ , i.e. 50% protection. The positions of experimental estimates of  $f$  by lgD are shown. Regression equations of the form  $f = k (lgD) - B$  are given, where  $f$  is the expected equivalent of the protection index for given lgD;  $k$  and  $B$  are regression coefficients.

The following combinations are presented:

- 1) H5N1 LPAI virus Yamal strain antigen × H5N1 HPAI virus Primorsky strain;
- 2) H5N1 LPAI virus Yamal strain antigen × H5N8 HPAI virus KChR strain;
- 3) H5N1 HPAI virus Primorsky strain antigen × H5N8 HPAI KChR strain.

**Таблица 2**

Концентрации антигенов, обеспечивающих защиту 50% ( $D_{50}$ ) и 95% ( $D_{95}$ ) вакцинированных птиц, и соответствующие дозы ГАЕ ( $A_{50}$  и  $A_{95}$ ), установленные при данных условиях испытаний «иммунизирующий антиген × штамм-пробойник»

**Table 2**

Antigen concentration conferring protection to 50% ( $D_{50}$ ) and 95% ( $D_{95}$ ) of vaccinated poultry and corresponding numbers of HAU ( $A_{50}$  and  $A_{95}$ ), determined under given testing conditions: immunizing antigen × challenge virus strain

Иммунизирующий антиген × штамм-пробойник	$lgD_{50}^*$	$D_{50}$	$A_{50}^{**}$	$lgD_{95}^\#$	$D_{95}$	$A_{95}$
НГП H5N1 штамм Ямал × ВГП H5N1 штамм Приморский	1,283	$D_0/19,2$	89	0,447	$D_0/2,8$	609
НГП H5N1 штамм Ямал × ВГП H5N8 штамм КЧР	2,555	$D_0/359$	5	0,828	$D_0/6,7$	255
ВГП H5N1 штамм Приморский × ВГП H5N8 штамм КЧР	1,617	$D_0/41,4$	21	0,459	$D_0/2,9$	294

Расчеты концентрации антигенов проведены по уравнениям вида  $f = k (lgD) - B$ , где  $f$  – ожидаемая величина эквивалента индекса защиты для заданного lgD;  $k$  и  $B$  – регрессионные коэффициенты.

\* логарифм разведения цельного антигена для  $f_{50} = 0$  ( $lgD_{50} = B/-k$ );

\*\*  $A = (0,5/3) \times (A_0/D)$ , где  $A$  – количество ГАЕ в прививном объеме вакцины для данного разведения антигена (D) и количество ГАЕ в неразведенном антигене ( $A_0$ );  $^\#$  логарифм разведения цельного антигена для  $f_{95} = 1,279$  ( $lgD_{95} = (B - 1,279)/-k$ ).

The antigen concentration was calculated using the following equation:  $f = k (lgD) - B$ ,

where  $f$  – expected equivalent of protection index for given lgD;  $k$  and  $B$  – regression coefficients.

\* logarithm of undiluted antigen dilution for  $f_{50} = 0$  ( $lgD_{50} = B/-k$ );

\*\*  $A = (0,5/3) \times (A_0/D)$ , where  $A$  – number of HAU in the vaccine inoculation volume for given antigen dilution (D) and HAU number in undiluted antigen ( $A_0$ );

$^\#$  logarithm of undiluted antigen dilution for  $f_{95} = 1,279$  ( $lgD_{95} = (B - 1,279)/-k$ ).

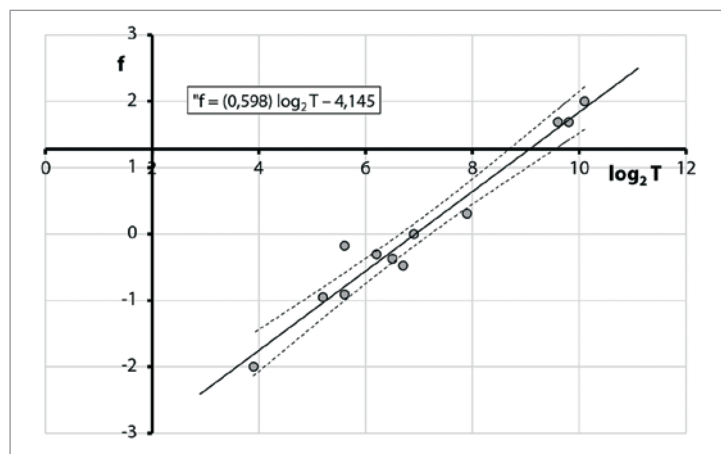


Рис. 2. Зависимость между средним логарифмическим титром антител ( $\log_2 T$ ) и эквивалентом индекса защиты ( $f$ ) у птиц, иммунизированных вакциной на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал и вакциной на основе антигена вируса ВГП H5N1 штамма Приморский

Ось ординат пересечена в точке  $f = 1,279$ , соответствующей  $C = 0,95$ , т. е. 95% защиты. Приведено регрессионное уравнение вида " $f = (0,598) \log_2 T - 4,145$ ", где " $f$ " – ожидаемая величина эквивалента для заданного  $\log_2 T$ . Пунктиром показаны границы доверительного интервала ( $p = 0,05$ ) регрессии.

Fig. 2. Relationship between logarithmic mean antibody titre ( $\log_2 T$ ) and equivalent of protection index ( $f$ ) in poultry immunized with vaccine based on H5N1 LPAI Yamal strain antigen and H5N1 HPAI Primorsky strain antigen

The ordinate axis is crossed at the point  $f = 1.279$ , corresponding to  $C = 0.95$ , i.e. 95% protection. Regression equation of the form " $f = (0.598) \log_2 T - 4.145$ " is given, where " $f$ " – expected equivalent for given  $\log_2 T$ . The dashed line shows the boundaries of the confidence interval ( $p = 0.05$ ) of the regression.

условиях испытаний обеспечивали защиту 50% ( $\lg D_{50} = B/k$ ) и 95% ( $\lg D_{95} = (B - f_{95})/k$ ) вакцинированных птиц. Для установленных значений  $D_{50}$  и  $D_{95}$  были определены соответствующие дозы ГАЕ в прививном объеме вакцины ( $A_{50}$  и  $A_{95}$ ). Результаты проведенных расчетов представлены в таблице 2.

Анализ зависимости эквивалентов индексов защиты от напряженности поствакцинального гуморального иммунитета. Оценкой напряженности поствакцинального гуморального иммунитета считали средний логарифмический титр антител ( $\log_2 T$ ), установленный соответственно известному  $f$ -показателю в группе вакцинированных птиц через 28 сут после иммунизации вакцинами с различными разведениями антигенов. Результаты, определенные для указанных условий, представлены в таблице 3.

Изучали связь между показателями гуморальной иммунной реакции ( $\log_2 T$ ) и эквивалентами индексов защиты ( $f$ ). Для построения модели связи в системе « $\log_2 T - f$ » использовали регрессионный метод. Полученные результаты приведены на рисунке 2.

Приведенное уравнение вида

$$f = (0,598) \log_2 T - 4,145$$

позволило определить прогнозируемый титр антител, при котором ожидаемая защита вакцинированной птицы достигнет 95% ( $f_{95} = 1,279$ ). Искомое значение составило  $\log_2 T_{95} = (4,145 + 1,279) / 0,598 = 9,07$ , или  $T = 538$ . Границы доверительного интервала ( $p = 0,05$ ) указанной оценки составили  $8,67 \leq \log_2 T_{95} \leq 9,60$ , или  $407 \leq T_{95} \leq 776$ .

Таблица 3  
Результаты РТГА с сыворотками крови, полученными от птиц, привитых вакцинами на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал и антигена вируса ВГП H5N1 штамма Приморский, и гомологичными антигенами

Table 3  
HI tests of sera collected from poultry immunized with the vaccines based on H5N1 LPAI virus Yamal strain antigen and H5N1 HPAI virus Primorsky strain antigen against homologous virus antigens

Средние титры антител ( $\log_2 T$ ,  $n \geq 3$ ), установленные соответственно испытанным антигенам и эквивалентам индексов защиты ( $f$ ) птиц после контрольного заражения

Антиген	$\log_2 T$	$f$
НГП H5N1 штамм Ямал	$10,1 \pm 0,4$	1,996
	$6,9 \pm 0,4$	-0,368
	$6,7 \pm 0,5$	-0,477
	$3,9 \pm 0,6$	-1,996
	$9,6 \pm 0,5$	1,690
	$7,9 \pm 0,6$	0,308
	$6,2 \pm 0,4$	-0,308
ВГП H5N1 штамм Приморский	$5,6 \pm 0,4$	-0,908
	$9,8 \pm 0,4$	1,690
	$6,5 \pm 0,5$	0,000
	$5,2 \pm 0,5$	-0,954

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антиген вируса низкопатогенного гриппа птиц штамма Ямал подтипа H5N1 в составе инактивированной эмульгированной вакцины способен индуцировать выработку напряженного иммунитета у кур против высокопатогенного гриппа птиц. На основании результатов, полученных в ходе проведенных исследований, были сделаны следующие выводы:

- инактивированная вакцина на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал способна вызывать перекрестный иммунитет против вируса ВГП H5N1 штамма Приморский. В эксперименте препарат был способен обеспечить протективный эффект у 100% вакцинированных птиц. Используемый в препарате антиген содержал против гетерологичного вируса  $19,2 D_{50}$ . Для защиты 95% иммунизированной птицы прогнозируемая доза антигена в прививном объеме вакцины должна составлять не менее 609 ГАЕ;

- инактивированная вакцина на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал способна вызывать перекрестный иммунитет против вируса ВГП H5N8 штамма КЧР. В эксперименте препарат был способен обеспечить протективный эффект у 100% вакцинированных птиц. Используемый в препарате антиген содержал против гетерологичного вируса  $359 D_{50}$ . Для защиты 95% иммунизированной птицы прогнозируемая доза антигена в прививном объеме вакцины должна составлять не менее 255 ГАЕ;

- инактивированная вакцина на основе антигена вируса ВГП H5N1 штамма Приморский способна вызывать перекрестный иммунитет против вируса ВГП H5N8

штамма КЧР. В эксперименте препарат был способен обеспечить протективный эффект у 100% вакцинированных птиц. Исползованный в препарате антиген содержал против гетерологичного вируса 41,4 D<sub>50</sub>. Для защиты 95% иммунизированной птицы прогнозируемая доза антигена в прививном объеме вакцины должна составлять не менее 294 ГАЕ;

– протективный эффект испытанных инактивированных вакцин связан с напряженностью гуморального иммунитета птицы. Прогнозируемый титр антител, при котором ожидаемая защита вакцинированной птицы достигнет 95%, составил "Т<sub>95</sub> = 538. Границы доверительного интервала ( $p = 0,05$ ) указанной оценки имели вид 407 ≤ "Т<sub>95</sub> ≤ 776. Показатель "Т<sub>95</sub> может быть полезен для опосредованной оценки напряженности поствакцинального иммунитета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Avian influenza (including infection with pathogenicity avian influenza viruses). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.3.4. Режим доступа: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.03.04\\_AI.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf) (дата обращения: 28.02.2022).
2. Зиняков Н. Г., Андриясов А. В., Овчинникова Е. В., Козлов А. А., Жестков П. Д., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Анализ маркерных замен изолята вируса гриппа A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8, выделенного на территории Астраханской области. *Ветеринария сегодня*. 2021; (2): 132–137. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-132-137.
3. Zecchin B., Goujgoulova G., Monne I., Salviato A., Schivo A., Slavcheva I., et al. Evolutionary dynamics of H5 highly pathogenic avian influenza viruses (clade 2.3.4.4B) circulating in Bulgaria in 2019–2021. *Viruses*. 2021; 13 (10):2086. DOI: 10.3390/v13102086.
4. World Health Organization. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness = Caractéristiques génétiques et antigéniques des virus grippaux A zoonotiques et mise au point de virus vaccinaux candidats pour se préparer à une pandémie. *Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire*. 2021; 96 (12): 88–104. Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/340335>.
5. Tian J., Li M., Bai X., Li Y., Wang X., Wang F., et al. H5 low pathogenic avian influenza viruses maintained in wild birds in China. *Vet. Microbiol.* 2021; 263:109268. DOI: 10.1016/j.vetmic.2021.109268.
6. Акшалова П. Б., Зиняков Н. Г., Андриясов А. В., Жестков П. Д., Никонова З. Б., Колосов С. Н., Чвала И. А. Генетический анализ нуклеотидных последовательностей гена нейраминидазы изолятов вируса высокопатогенного гриппа птиц A/H5N8, выделенных на территории Российской Федерации в 2020 году. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 301–307. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-301-307.
7. Brugh M., Beard C. W., Stone H. D. Immunization of chickens and turkeys against avian influenza with monovalent and polyvalent oil emulsion vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 1979; 40 (2): 165–169. PMID: 464352.
8. Lee C. W., Senne D. A., Suarez D. L. Effect of vaccine use in the evolution of Mexican lineage H5N2 avian influenza virus. *J. Virol.* 2004; 78 (15): 8372–8381. DOI: 10.1128/JVI.78.15.8372-8381.2004.
9. Kayali G., Kandeil A., El-Shesheny R., Kayed A. S., Gomaa M. R., Kutkat M. A., et al. Do commercial avian influenza H5 vaccines induce cross-reactive antibodies against contemporary H5N1 viruses in Egypt? *Poult. Sci.* 2013; 92 (1): 114–118. DOI: 10.3382/ps.2012-02637.
10. Poetri O. N., Van Boven M., Koch G., Stegeman A., Claassen I., Wayan Wisaksana I., Bouma A. Different cross protection scopes of two avian influenza H5N1 vaccines against infection of layer chickens with a heterologous highly pathogenic virus. *Res. Vet. Sci.* 2017; 114: 143–152. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.04.005.
11. Lewis N. S., Banyard A. C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerg. Microbes Infect.* 2021; 10 (1): 148–151. DOI: 10.1080/22221751.2021.1872355.
12. Shichinohe S., Okamatsu M., Yamamoto N., Noda Y., Nomoto Y., Honda T., et al. Potency of an inactivated influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against a challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza viruses in chickens. *Vet. Microbiol.* 2013; 164 (1–2): 39–45. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.01.041.
13. Swayne D. E., Lee C. W., Spackman E. Inactivated North American and European H5N2 avian influenza virus vaccines protect chickens from

Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. *Avian Pathology*. 2006; 35 (2): 141–146. DOI: 10.1080/03079450600597956.

14. Ирза В. Н., Волков М. С., Варкентин А. В., Фролов С. В., Алтунин Д. А. Протективные свойства отечественных серийных и экспериментальных вакцин в отношении вирусов высоковирулентного гриппа птиц подтипов H5N1 и H5N8, изолированных в 2015–2016 гг. *Птица и птицепродукты*. 2017; 6: 12–18. eLIBRARY ID: 30731041.

15. Karczyski D. R., Pantin-Jackwood M. J., Spackman E., Chrzastek K., Suarez D. L., Swayne D. E. Homologous and heterologous antigenic matched vaccines containing different H5 hemagglutinins provide variable protection of chickens from the 2014 U.S. H5N8 and H5N2 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza viruses. *Vaccine*. 2017; 35 (46): 6345–6353. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.04.042.

16. Poetri O. N., Van Boven M., Koch G., Stegeman A., Claassen I., Wayan Wisaksana I., Bouma A. Different cross protection scopes of two avian influenza H5N1 vaccines against infection of layer chickens with a heterologous highly pathogenic virus. *Res. Vet. Sci.* 2017; 114: 143–152. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.04.005.

17. Swayne D., Sims L. Avian influenza. In: *Veterinary Vaccines: Principles and Applications*. Ed. by S. Metwally, G. Viljoen, A. El Idriissi. 1<sup>st</sup> ed. Chichester: John Wiley & Sons Limited; FAO; 2021; Chapter 18: 229–251. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/cc2031en/cc2031en.pdf>.

18. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 598 с.

19. Ферстер Э., Ренц Б. Методы корреляционного и регрессионного анализа. М.: Финансы и статистика; 1983. 304 с.

20. Ван дер Ваден Б. Л. Математическая статистика. М.: Издательство иностранной литературы; 1960. 434 с.

21. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина; 1975. 297 с.

## REFERENCES

1. Avian influenza (including infection with pathogenicity avian influenza viruses). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.3.4. Available at: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.03.04\\_AI.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf) (date of access: 28.02.2022).
2. Zinyakov N. G., Andriyasov A. V., Ovchinnikova Ye. V., Kozlov A. A., Zhestkov P. D., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Analysis of marker substitutions in A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8 isolate of avian influenza virus recovered in the Astrakhan Oblast. *Veterinary Science Today*. 2021; (2): 132–137. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-132-137.
3. Zecchin B., Goujgoulova G., Monne I., Salviato A., Schivo A., Slavcheva I., et al. Evolutionary dynamics of H5 highly pathogenic avian influenza viruses (clade 2.3.4.4B) circulating in Bulgaria in 2019–2021. *Viruses*. 2021; 13 (10):2086. DOI: 10.3390/v13102086.
4. World Health Organization. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness = Caractéristiques génétiques et antigéniques des virus grippaux A zoonotiques et mise au point de virus vaccinaux candidats pour se préparer à une pandémie. *Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire*. 2021; 96 (12): 88–104. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/340335>.
5. Tian J., Li M., Bai X., Li Y., Wang X., Wang F., et al. H5 low pathogenic avian influenza viruses maintained in wild birds in China. *Vet. Microbiol.* 2021; 263:109268. DOI: 10.1016/j.vetmic.2021.109268.
6. Akshalova P. B., Zinyakov N. G., Andriyasov A. V., Zhestkov P. D., Nikonova Z. B., Kolosov S. N., Chvala I. A. Genetic analysis of nucleotide sequences of neuraminidase gene of highly pathogenic avian influenza A/H5N8 virus isolates recovered in the Russian Federation in 2020. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 301–307. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-301-307.
7. Brugh M., Beard C. W., Stone H. D. Immunization of chickens and turkeys against avian influenza with monovalent and polyvalent oil emulsion vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 1979; 40 (2): 165–169. PMID: 464352.
8. Lee C. W., Senne D. A., Suarez D. L. Effect of vaccine use in the evolution of Mexican lineage H5N2 avian influenza virus. *J. Virol.* 2004; 78 (15): 8372–8381. DOI: 10.1128/JVI.78.15.8372-8381.2004.
9. Kayali G., Kandeil A., El-Shesheny R., Kayed A. S., Gomaa M. R., Kutkat M. A., et al. Do commercial avian influenza H5 vaccines induce cross-reactive antibodies against contemporary H5N1 viruses in Egypt? *Poult. Sci.* 2013; 92 (1): 114–118. DOI: 10.3382/ps.2012-02637.
10. Poetri O. N., Van Boven M., Koch G., Stegeman A., Claassen I., Wayan Wisaksana I., Bouma A. Different cross protection scopes of two avian influenza H5N1 vaccines against infection of layer chickens with a heterologous highly pathogenic virus. *Res. Vet. Sci.* 2017; 114: 143–152. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.04.005.
11. Lewis N. S., Banyard A. C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerg. Microbes Infect.* 2021; 10 (1): 148–151. DOI: 10.1080/22221751.2021.1872355.

12. Shichinohe S., Okamatsu M., Yamamoto N., Noda Y., Nomoto Y., Honda T., et al. Potency of an inactivated influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against a challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza viruses in chickens. *Vet. Microbiol.* 2013; 164 (1–2): 39–45. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.01.041.
13. Swayne D. E., Lee C.W., Spackman E. Inactivated North American and European H5N2 avian influenza virus vaccines protect chickens from Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. *Avian Pathology.* 2006; 35 (2): 141–146. DOI: 10.1080/03079450600597956.
14. Irza V. N., Volkov M. S., Varkentin A. V., Frolov S. V., Altunin D. A. The protective features of domestic serial and experimental vaccines with regard to highly pathogenic avian influenza of H5N1 and H5N8 types isolated in 2015–2016. *Poultry & Chicken Products.* 2017; 6: 12–18. eLIBRARY ID: 30731041. (in Russ.)
15. Kapczynski D. R., Pantin-Jackwood M. J., Spackman E., Chrzastek K., Suarez D. L., Swayne D. E. Homologous and heterologous antigenic matched vaccines containing different H5 hemagglutinins provide variable protection of chickens from the 2014 U.S. H5N8 and H5N2 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza viruses. *Vaccine.* 2017; 35 (46): 6345–6353. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.04.042.
16. Poetri O. N., Van Boven M., Koch G., Stegeman A., Claassen I., Wayan Wisaksana I., Bouma A. Different cross protection scopes of two avian influenza H5N1 vaccines against infection of layer chickens with a heterologous highly pathogenic virus. *Res. Vet. Sci.* 2017; 114: 143–152. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.04.005.
17. Swayne D., Sims L. Avian influenza. In: *Veterinary Vaccines: Principles and Applications.* Ed. by S. Metwally, G. Viljoen, A. El Idrissi. 1<sup>st</sup> ed. Chichester: John Wiley & Sons Limited; FAO; 2021; Chapter 18: 229–251. Available at: <https://www.fao.org/3/cc2031en/cc2031en.pdf>.
18. Sachs L. Statistische Auswertungsmethoden. Berlin: Springer-Verlag; 1972. 545 s. DOI: 10.1007/978-3-662-10037-0. (in German)
19. Förster E., Rönz B. Methoden der Korrelations- und Regressionsanalyse. Berlin: Die Wirtschaft; 1979. 324 s. (in German)
20. Van der Waerden B. L. Mathematische Statistik. Berlin: Springer-Verlag; 1957. 360 s. (in German)
21. Urbakh V. Yu. Statistical analysis in biological and medical research. Moscow: Medicina; 1975. 297 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 26.07.2022

Поступила после рецензирования / Revised 25.08.2022

Принята к публикации / Accepted 05.09.2022

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Фролов Сергей Владимирович**, кандидат ветеринарных наук, начальник отдела профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Чвала Илья Александрович**, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Мороз Наталья Владимировна**, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по производству ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Кулаков Владимир Юрьевич**, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Сосипаторова Виктория Юрьевна**, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Андрейчук Дмитрий Борисович**, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

**Sergey V. Frolov**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Department for Avian Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Ilya A. Chvala**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Natalya V. Moroz**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Production, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Vladimir Yu. Kulakov**, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Viktoriya Yu. Sosipatorova**, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

**Dmitry B. Andreychuk**, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.