

УДК 579.62

СОМАТОТРОПНЫЙ ГОРМОН КАК СРЕДСТВО ПОВЫШЕНИЯ ПРОТЕКТИВНОСТИ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА СЕЛЕНОВЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ, НЕСУЩИМИ АНТИГЕНЫ *ESCHERICHIA COLI*

Габалов К.П.¹, Тарасенко Т.Н.¹, Галкина О.А.¹, Фомин А.С.¹, Рюмина М.В.¹,
Видягина О.С.², Староверов С.А.^{1,2}, Волков А.А.^{1,2}

¹ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт», Саратов, e-mail: gabalov_konstantin@mail.ru;

²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», Саратов, e-mail: vosvosvos@mail.ru

Проведен анализ применения соматотропного гормона в качестве средства повышения протективности иммунизации против колибактериоза антигенами *Escherichia coli* в составе частиц восстановленного селена. Восстановлением селенита тиосульфатом натрия в суточной культуре вакцинного штамма *Escherichia coli* Б-5 на селенитовом бульоне получали культуру с восстановленным селеном (КВС). Кроликов иммунизировали КВС двукратно с интервалом в семь дней. Половине иммунизированных животных вводили рекомбинантный соматотропный гормон (СТГ) в дозе 0,067 мг/кг (0,022 ЕМ/кг) дважды в день в течение первой недели иммунизации. Иммунизация КВС приводит к росту активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) и падению активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови, что выражается в росте значений коэффициента де Ритиса. Иммунизация КВС при одновременной инъекции СТГ приводит к падению активности АСТ и росту активности АЛТ, что снижает коэффициент де Ритиса. Иммунизация КВС и КВС совместно с СТГ повышала агглютинирующую способность сывороток крови в отношении клеток *E. coli* Б-5, однако только сыворотка животных, иммунизированных КВС совместно с СТГ, тормозила рост кишечной палочки *in vitro*. Корреляционный анализ выявил отрицательную связь роста *E. coli* Б-5 в сыворотке с активностью АЛТ независимо от иммунизации, корреляционный коэффициент Пирсона составил -0,97 ($p < 0.05$). Через три недели после начала инъекций кроликов внутривенно заражали *E. coli* Б-5 в дозе LD100. Выживаемость для животных, иммунизированных КВС, составила 50%, для животных при сопутствующих инъекциях СТГ она возрастала до 100%. Применение СТГ одновременно с иммунизацией антигенами *E. coli* Б-5, связанными с частицами селена, повышает протективность иммунизации. Причиной роста протективности иммунизации могут являться, помимо иммунологических эффектов иммунизации, благоприятные изменения биохимического гомеостаза организма. Применение СТГ при иммунизации может быть перспективно для борьбы с колибактериозом.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, коллоидный селен, иммунизация.

SOMATOTROPIC HORMONE AS A MEANS OF IMPROVING IMMUNIZATION PROTECTIVES AGAINST COLIBACTERIOSIS BY KBCLENIUM NANOPARTICLES, CARRIER ANTIGENS *ESCHERICHIA COLI*

Gabalov K.P.¹, Tarasenko T.N.¹, Galkina O.A.¹, Fomin A.S.¹, Ryumina M.V.¹,
Vidyagina O.S.², Staroverov S.A.^{1,2}, Volkov A.A.^{1,2}

¹Federal State Budgetary Scientific Institution Saratov Scientific and Research Veterinary Institute, Saratov, e-mail: gabalov_konstantin@mail.ru;

²Saratov State Agrarian University Named After N.I. Vavilov, Saratov, e-mail: vosvosvos@mail.ru

Was carried out an analysis of the use of somatotropic hormone as a means of increasing immunization protectivity against colibacillosis by *Escherichia coli* antigens in the composition of reduced selenium particles. By a reduction of selenite by sodium thiosulfate in an overnight culture of the vaccine strain *Escherichia coli* B-5 on selenium broth produced a culture with reduced selenium (CVS). The rabbits were immunized with the obtained CVS, twice with an interval per week. Half of the immunized animals was injected recombinant somatotropic hormone (STH) at a dose of 0.067 mg/kg (0.022 IU/kg) twice daily for the first week of immunization. Immunization of CVS leads to an increase in activity of aspartate aminotransferase (AST) and a decrease in the activity of alanine aminotransferase (ALT) in the blood serum, which is expressed in the growth of values of de Ritis ratio. Immunization of CV with simultaneous injection of STH leads to a decrease in the activity of AST and an increase of ALT activity, which reduces the de Ritis coefficient. Immunization of CVS and CVS together with STH increased the agglutinating capacity of blood serum for *E. coli* Б-5 cells, but only

serum of animals immunized with CVC in conjunction with STH, inhibited the growth of *E. coli* Б-5 in vitro. Correlation analysis revealed a negative correlation of *E. coli* Б-5 growth in serum with ALT activity irrespective of immunization, the Pearson correlation coefficient was -0.97 ($p < 0.05$). Three weeks after the initiation of rabbit injections, *E. coli* Б-5 was injected intravenously at a dose of LD100. Survival for animals immunized with CVS was 50%, for animals with concomitant STG injections increased to 100%. The use of STH concomitantly with immunization with *E. coli* Б-5 antigens associated with selenium particles increases immunization protectivity. The reason for the growth of immunization protectivity may be, in addition to the immunological effects of immunization, favorable changes in the biochemical homeostasis of the organism. The use of STH in immunization can be promising for the control of colibacillosis.

Keywords: *Escherichia coli*, colloidal selenium, immunization.

Колибактериоз - общее название группы инфекций, вызываемых кишечной палочкой *Escherichia coli* и, реже, другими эшерихиями - *E. paracoli*, *E. fergusonii*, вызывающими большую группу разнообразных заболеваний человека и животных [1; 2]. В настоящее время колибактериоз остается одним из серьезных заболеваний сельскохозяйственных животных [1]. В животноводстве заболевание приводит к значительной гибели молодняка и большим потерям привесов у взрослого поголовья [3].

Широкая распространённость вирулентных штаммов кишечной палочки и разнообразие серологических и токсигенных свойств бактерии осложняет создание универсальной вакцины против данного заболевания [1; 4; 5]. В последние годы в качестве живой вакцины успешно применяется слабовирулентный α -гемолитический штамм *E. coli* Б-5, иммунизация которым приводит к формированию устойчивого антитоксического иммунитета [6; 7]. Однако использование живых вакцин может быть опасно при иммунодефицитных состояниях и связано с интродукцией в окружающую среду потенциально опасного микроба [5].

Одним из перспективных подходов к профилактике колибактериоза является применение субъединичных вакцин [8; 9; 10]. Для повышения иммуногенности субъединичных вакцин используются различные адъюванты: ланолин, фосфат и гидроксид алюминия, хлорид и фосфат кальция, силикаты, нуклеотиды, полианионы и др. [11]. Перспективным направлением в вакцинологии является использование адъювантных свойств различных наночастиц [12; 13]. Так, для иммунизации против колибактериоза были использованы частицы селена, связанные с антигенами *E. coli* Б-5, что повышало выживаемость мышей на 50% в сравнении со стандартным формализованным анатоксином культуры *E. coli* Б-5 при летальном заражении [14].

Активность ряда ферментов крови является индикатором иммунологического статуса и биохимического гомеостаза организма животного. К ним относятся такие ферменты, как аспаратаминотрансфераза (АСТ) и креатинкиназа (КК), отражающие интенсивность аэробных процессов окисления, а также аланинаминотрансфераза (АЛТ) и лактатдегидрогеназа (ЛДГ), свидетельствующие о направленности метаболизма [15]. В

здоровом организме повышение активности АЛТ свидетельствует об активизации пластических процессов. Повышение активности АСТ свидетельствует о преобладании энергозатратных процессов, в том числе при иммунном ответе организма на внедрение патогена и т.д. КК стимулирует процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях [16]. Активность ЛДГ в крови повышается при энергозатратных процессах, требующих восполнения питательных веществ, а соотношение АСТ/ЛДГ отражает соотношение аэробного и анаэробного окисления углеводов [16]. Отношение АСТ/АЛТ, или коэффициент де Ритиса, отражает баланс энергетического и пластического обмена [16]. Для оценки сбалансированности метаболических процессов в организме животного предложен также индекс ферментемии (ИФ): $ИФ = АСТ/АЛТ + АСТ/ЛДГ + КК/ЛДГ$ [15; 17; 18]. Показано, что чем ниже значение ИФ в крови животного, тем выше активность анаболических процессов [15].

Помимо иммуностимулирующего, у любой вакцины имеются побочные эффекты, в частности нарушения метаболического гомеостаза, которые следует учитывать при иммунизации животных [19; 20]. Ранее было показано, что биохимическое состояние макроорганизма сказывается на заражении и исходе бактериального заболевания [15; 16; 18]. Инфицирование цыплят-бройлеров штаммом *E. coli* Б-5 приводит к увеличению в крови активности КК, значений коэффициента де Ритиса и ИФ, снижению активности АЛТ и ЛДГ [16]. При инфекционных заболеваниях, вызванных различными токсигенными микроорганизмами, наблюдается повышение ИФ и коэффициента де Ритиса, что обусловлено интенсификацией окислительного фосфорилирования [16]. Повышение активности АСТ в крови иммунизированных животных прямо коррелирует с метаболической активностью лейкоцитов, рост активности КК указывает на защиту клеток от цитолиза [16], т.е. изменение активности ферментов является не только маркером течения инфекционного процесса, но может играть защитно-компенсаторную роль [21].

Для коррекции метаболических эффектов, вызванных вакцинацией, может быть полезно применение модуляторов метаболизма [22]. Одним из возможных усилителей протективного эффекта является соматотропный гормон (СТГ), стимулирующий анаболические процессы [23]. В силу сказанного логично предположение, что коррекция биохимического состояния организма путём введения СТГ параллельно с вакцинацией животных против колибактериоза может приводить к росту протективного эффекта иммунизации и снятию её побочных эффектов.

Цель исследования состояла в оценке повышения протективности иммунизации животных против колибактериоза культурой *E. coli* Б-5 с восстановленным селеном, несущей

клеточные и экстрацеллюлярные антигены, путем одновременного введения соматотропного гормона и выяснении сопутствующих биохимических последствий иммунизации.

Материал и методы исследования. В работе использовали штамм *E. coli* Б-5 из музея культур Саратовского научно-исследовательского ветеринарного института, применяющийся в качестве вакцинного [7].

Приготовление культуры с восстановленным селеном, несущей клеточные и экстрацеллюлярные антигены *E. coli* Б-5 (КВС). 10 мл селенитового бульона (НПО «Питательные среды», Россия) инокулировали суточной агаровой культурой *E. coli* Б-5 (1 млрд КОЕ/мл) и культивировали в течение 18 ч (37 °С). Для восстановления остаточного селенита в культуру вносили 400 мкл 30% тиосульфата натрия до конечной концентрации 1.2% и инкубировали в течение 2 ч (37°С).

Исследование проводили на беспородных кроликах-самцах весом $3,5 \pm 0,2$ кг, формировали 4 группы животных по 6 голов. Животных одной группы иммунизировали КВС в дозе 0.1 мл/кг веса, подкожно, двукратно с интервалом в неделю (группа «КВС»); другим подкожно вводили СТГ в дозе 0,067 мг/кг (0,022 ЕМ/кг), 2 раза в день в течение 6 дней (группа «СТГ»); животных третьей группы иммунизировали КВС одновременно с инъекцией СТГ, как указано выше (группа «КВС+СТГ»). Животные четвертой группы получали 0,9% NaCl в объеме 0.1 мл/кг веса дважды в день в течение 6 дней («Контроль»). От животных до начала инъекций и через две недели после их окончания получали образцы сыворотки крови.

В сыворотке крови с помощью полуавтоматического биохимического анализатора Sinnova BS-3000P с использованием соответствующих наборов реагентов ЗАО «Диакон-ДС» согласно указаниям производителя определяли концентрацию общего белка, глобулина, глюкозы, активность ферментов АЛТ, АСТ, КК и ЛДГ; вычисляли интегральные показатели биохимического статуса - коэффициент де Ритиса и индекс ферментемии (ИФ) [17].

Определение агглютинативной активности сыворотки крови против клеток суточной агаровой культуры *E. coli* Б-5 проводили в объемной модификации в разведении сыворотки крови 1:50 в физиологическом растворе, полноту агглютинации оценивали в крестах [24].

Определяли способность сыворотки крови поддерживать рост *E. coli* Б-5 *in vitro*. Образцы сыворотки крови инокулировали клетками *E. coli* Б-5 до плотности 10 млн КОЕ/мл, полученные культуры инкубировали 6 ч при 37 °С. Концентрацию колониеобразующих единиц *E. coli* Б-5 в культурах определяли высевом на мясопептонный агар. Находили связь роста плотности культуры с биохимическими параметрами крови, используя методы корреляционного анализа – корреляцию Пирсона и множественной корреляции, достоверность различий определяли в тесте Стьюдента [25].

Через 3 недели после начала инъекций все экспериментальные животные были заражены внутривенно летальной дозой *E. coli* Б-5 ($2 \cdot 10^9$ КОЕ/кг веса). В течение 2 недель после заражения регистрировали гибель животных, по истечении 14 дней выживших животных забивали и производили патоморфологический анализ органов [26].

Результаты исследования и обсуждение. Иммунизация культурой *E. coli* Б-5 с восстановленным селеном усиливает агглютинирующую способность сыворотки крови в отношении клеток бактерии. Степень агглютинации клеток *E. coli* Б-5 составила для групп «КВС» и «КВС+СТГ» - «++++», для животных группы «СТГ» - «++», для «Контроля» – «+».

Как иммунизация, так и применение СТГ заметно сказываются на биохимических показателях, причем разным образом (табл. 1).

Таблица 1

Активность ферментов сыворотки крови и значения коэффициента де Ритиса и индекса ферментемии у подопытных животных на 14-й день эксперимента, нКат/л

Группы, n=6	АЛТ	АСТ	КФК	ЛДГ	Коэффициент де Ритиса	Индекс ферментемии
СТГ	293 ± 27¹	717 ± 48¹	5248 ± 348¹	3687 ± 552¹	2,44 ± 0,18	4,06 ± 0,36
КВС	295 ± 28¹	1052 ± 107¹	9350 ± 938	4772 ± 715	3,56 ± 0,38¹	5,74 ± 0,44¹
КВС + СТГ	413 ± 33¹	682 ± 63¹	8595 ± 1023	5165 ± 773	1,65 ± 0,19¹	3,45 ± 0,81¹
Контроль	353 ± 45	865 ± 85	8972 ± 1002	4968 ± 745	2,45 ± 0,19	4,43 ± 0,16

Примечание: ¹ – значение отличается от контроля при $p < 0,05$.

Иммунизация у животных группы «КВС» приводит к росту активности АСТ при снижении активности АЛТ, вызывая повышение коэффициента де Ритиса и индекса ферментемии (ИФ), что свидетельствует о биохимическом сопровождении иммунизации. Инъекции СТГ приводят к падению активности всех ферментов и некоторому, недостоверному, снижению ИФ, что свидетельствует о преобладании анаболических процессов. Введение СТГ при иммунизации приводит к росту активности АЛТ при падении АСТ, мало затрагивая активность остальных ферментов, что приводит к падению значений коэффициента де Ритиса и ИФ в сравнении с контролем. Таким образом, СТГ при иммунизации стимулирует изменение активности комплекса ферментов, стимулирующее анаболические процессы [16].

Данные по влиянию инъекций СТГ и КВС на концентрацию глюкозы, общего белка и глобулинов в сыворотке крови приведены в таблице 2. СТГ вызывал рост концентрации общего белка и глобулина, что свидетельствует о стимуляции анаболизма. Иммунизация КВС приводила к падению концентрации глобулина в сыворотке, но параллельное введение СТГ, снижая концентрацию общего белка, повышало концентрацию глобулина.

Таблица 2

Концентрации общего белка, глобулина и глюкозы в сыворотке крови экспериментальных животных на 14-й день эксперимента

Группы	Глюкоза, мМ/л	Общий белок, г/л	Глобулин, г/л
СТГ	6,97 ±1,04	56,70 ±6,98¹	15,38 ±2,30¹
КВС	6,31 ±0,94	53,79 ±6,51	9,51 ±1,42¹
КВС + СТГ	6,01 ±0,90	43,01 ±3,45¹	18,01 ±2,70¹
Контроль	6,15 ±0,92	48,40 ±3,26	13,76 ±2,06

Примечание: ¹ – значение отличается от контроля при $p < 0,05$.

Плотность колониеобразующих единиц в культурах *E. coli* Б-5 на сыворотке крови *in vitro* на 6-й час инкубации составила для группы «КВС» 327±5, для «КВС + СТГ» 27±1, для группы «СТГ» составила 248±4 и для контроля – 177±3 миллионов КОЕ/мл. Неожиданным фактом является более сильный рост *E. coli* Б-5 в сыворотке крови животных, иммунизированных только культурой с восстановленным селеном, сыворотка животных, получавших СТГ, также хорошо поддерживала рост бактерии. Однако сыворотка крови животных, параллельно получавших КВС и СТГ, поддерживала рост хуже, чем сыворотка контрольных животных, т.е. вакцинация КВС совместно с инъекциями СТГ снижает пригодность сыворотки крови для роста *E. coli* Б-5.

Корреляционный анализ плотности колониеобразующих единиц *E. coli* Б-5 в культурах на сыворотке крови для всех животных, независимо от иммунизации или инъекций СТГ, выявил сильную связь роста с активностью АЛТ (табл. 1) и слабую - с концентрацией глюкозы в сыворотках (табл. 2). Корреляционный коэффициент Пирсона для пары КОЕ/АЛТ составил -0,97 ($p < 0,05$), для пары КОЕ/глюкоза +0,54 ($p > 0,05$), коэффициент множественной корреляции для плотности КОЕ с АЛТ и концентрацией глюкозы составил 1,00 ($p < 0,01$). Таким образом, рост бактерии в сыворотке контролируется как глюкозой, так и активностью АЛТ. Ранее для *Staphylococcus aureus* было показано отрицательное влияние активности АЛТ на рост бактерии в сыворотке крови, что связано с отрицательным влиянием продукта активности фермента – пирувата – на скорость размножения клеток [27]. *S. aureus* обладает смешанным аэробно-анаэробным метаболизмом, подобным метаболизмом обладает и *E. coli* Б-5, что может объяснить отрицательное влияние активности АЛТ на рост последней, и рост *E. coli* Б-5 в сыворотке экспериментальных животных контролируется не только концентрацией специфических иммуноглобулинов, но и ферментемией сыворотки.

СТГ активизирует анаболизм, что сказалось на приросте массы тела животных группы «СТГ» на $0,08 \pm 0,01$ кг за 14 дней эксперимента. Вес кроликов, иммунизированных КВС, уменьшился, снижение веса составило $0,25 \pm 0,03$ кг. У животных остальных групп также наблюдались отрицательные приросты массы тела, для «КВС + СТГ» составившие $0,10 \pm 0,02$

и для «Контроля» – $0,05 \pm 0,01$ кг. Снижение веса в группе «КВС + СТГ» было меньше, чем в группе «КВС», что свидетельствует об анаболическом действии СТГ при иммунизации.

Выживаемость при заражении летальной дозой клеток *E. coli* Б-5 составила 50% для животных, иммунизированных КВС; 0% для животных, получавших СТГ, и 100% при одновременном введении КВС и СТГ, что свидетельствует об иммуностимулирующем эффекте соматотропного гормона.

По истечении 20 дней после заражения произвели патоморфологическое обследование выживших животных. У кроликов группы «КВС» наблюдались крупозная пневмония, регионарный лимфонулит и признаки гипертермии, у животных группы «Се бульон+СТГ» обнаружена только гиперемия легких. Таким образом, СТГ может ослаблять остаточные явления и ускорять клиническое выздоровление при колибактериозе.

Заключение

Протективность иммунизации кроликов культурой *E. coli* Б-5 с восстановленным селеном при летальном заражении составляет 50%. Использование соматотропного гормона повышает протективность иммунизации до 100% и уменьшает остаточные явления у выживших животных, нормализует метаболизм и вес при иммунизации, корректируя ряд биохимических показателей. Таким образом, применение СТГ и восстановленного селена в качестве адьюванта может быть перспективным при борьбе с колибактериозом.

Список литературы

1. Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C. et al. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2nd Edition, 2011. Chichester: Wiley-Blackwell. 283 p.
2. Manges A.R., Johnson J.R. Food-borne origins of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections. *Food safety*, 2012, vol. 55, no. 5, pp. 712-719.
3. Куриленко А.Н. Бактериальные и вирусные болезни молодняка сельскохозяйственных животных / А.Н. Куриленко, В.Л. Крупальник, Н.В. Пименов. – М.: Колос, 2006. - 296 с.
4. Dirk van Elsas J., KVCmenov A.V., Costa R., Trevors J.T. Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *ISME Journal*, 2011, vol. 5, no. 2, pp. 173–183.
5. Hussain T. An introduction to the Serotypes, Pathotypes and Phylotypes of *Escherichia coli*. *International Journal of Microbiology and Allied Sciences (IJOMAS)*, 2015, vol. 2, no. 1, pp. 9-16.
6. Волкова М.В. Применение экспериментальной вакцины против эшерихиоза сельскохозяйственных животных / М.В. Волкова, М.Л. Малинин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2014. - Т. 4. - № 28. - С. 70-72.

7. Ласкавый В.Н., Щербаков А.А., Волкова М.В. Штамм *Escherichia coli* Б-5, используемый для получения термолабильного экзотоксина: патент РФ № 2248393. 2005. Бюл. № 8.
8. Алиев А.Д. Эффективность анатоксин-вакцины против колибактериоза цыплят-бройлеров // Вестник ветеринарии. - 2006. - № 2. - С.46-48.
9. Волков И.А. Колибактериоз свиней: вакцинопрофилактика // Ветеринария. - 2008. - № 4. - С. 12-15.
10. Сетдеков Р.А. Испытание иммуногенной активности субъединичной вакцины против колибактериоза телят и поросят в производственных условиях // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2008. - № 1. - С. 199-201.
11. Исаенко Е.Ю. Адьюванты в современной вакцинологии / Е.Ю. Исаенко [и др.] // *Annals of Mechnikov Institute*. - 2013. - № 4. - С. 5-20.
12. Дыкман Л.А. Адьювантные свойства наночастиц золота // Российские нанотехнологии. - 2010. - Т. 5. - № 11-12. - С. 58–68.
13. Staroverov S.A., Volkov A.A., Larionov S.V. et al. Study of transmissible-gastroenteritis-virus-antigen-conjugated immunogenic properties of selenium nanoparticles and gold. *Life Science Journal*, 2014, vol. 11, no. 11, pp. 456–460.
14. Габалов К.П. Использование наночастиц селена в качестве наноносителя лекарственных веществ и антигенов на примере адьюванта при иммунизации животных против колибактериоза / К.П. Габалов [и др.] // Ветеринарная патология. - 2016. - Т. 57. - № 3. - С. 31-38.
15. Ласкавый В.Н., Малинин М.Л. Способ оценки физиологического состояния организма цыплят: патент РФ № 2339045. 2008. Бюл. № 32.
16. Малинин М.Л. Взаимосвязь метаболических процессов и устойчивости к бактериальным инфекциям у животных на фоне действия возбудителей, их антигенов и препаратов на основе наночастиц: дис. ... доктора биол. наук. – Саратов, 2013. - 390 с.
17. Рослый И.М. Правила чтения биохимического анализа / И.М. Рослый, М.Г. Водолажская. - Медицинское информационное агентство, 2014. - 100 с.
18. Ласкавый В.Н., Малинин М.Л., Панфёров В.И., Невесенко Е.А. Способ оценки восприимчивости крупного рогатого скота к туберкулезу: патент РФ № 2452952. 2012. Бюл. № 16.
19. Евглевский А.А. Проблема вакцинации глубокостельных коров и практические аспекты ее решения / А.А. Евглевский, Е.И. Будкин, О.М. Швец, Е.П. Евглевская // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. - 2012. - № 9. - С. 67-69.
20. Жукова Н.В. Современные вакцины: характеристика и классификация / Н.В. Жукова, И.М. Кривошеева // Крымский терапевтический журнал. - 2013. - № 2. - С. 99-104.

21. Рослый И.М. Биохимические показатели в оценке цитолитических механизмов и метаболических процессов на примере инфекционного мононуклеоза / И.М. Рослый, С.В. Абрамов // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2005. - № 5. - С. 33–41.
22. Ноздрин В.И. Фармакологические свойства метилурацила / В.И. Ноздрин [и др.] // Альманах ЗАО «Ретиноиды». - 2009. - № 28. - С. 12-14.
23. Буланов Ю.Б. Гормон роста. - Тверская обл. типография, 2003. - 159 с.
24. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. – М.: Медицина, 1967. - 464 с.
25. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. - 350 с.
26. Жаров А.В. Патологическая анатомия сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 2004. - 720 с.
27. Рюмина М.В. Влияние ферментов и метаболитов энергетического обмена на *Staphylococcus aureus* / М.В. Рюмина [и др.] // Вестник ветеринарии. - 2014. - № 4 (71). - С. 42-45.