

**ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ/INFECTIOUS DISEASES AND ANIMAL IMMUNOLOGY**DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19>**ИЗУЧЕНИЕ СЛУЧАЕВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЕРОПОЗИТИВНОСТИ В РЕАКЦИИ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ НЕ ВАКЦИНИРОВАННОГО ПРОТИВ ЯЩУРА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Научная статья

Луговская Н.Н.^{1,*}¹ ORCID : 0009-0001-0029-6345;¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных», Владимир, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (lugovskaya[at]arriah.ru)

Аннотация

Целью проведения данных исследований было проанализировать случаи и возможные причины проявления неспецифической активности в реакции иммуноферментного анализа (ИФА) обнаружения антител к вирусу ящура в образцах сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС), не вакцинированного против ящура, и подтвердить необходимость уточнения статуса серопозитивных особей.

Сыворотку крови КРС в количестве 4573 образцов исследовали на наличие антител к вирусу ящура методом ИФА с использованием коммерческих наборов. При проведении 26089 иммуноферментных тестов разных форматов были выявлены случаи получения положительных результатов, не подтвердившихся в других серологических реакциях на наличие антител к структурным и неструктурным белкам вируса ящура. При обследовании в тест-системах ARRIAH (производитель ФГБУ «ВНИИЗЖ») разных групп невакцинированного КРС доля ложноположительных результатов составила 2,14%, что было близко к допустимым значениям, установленным ранее в рамках диагностической специфичности при валидации тест-систем ARRIAH для серотипов А, О, Asia 1: 1,0%, 1,5%, 2,4%, соответственно (среднее значение — 1,63%). В ходе параллельного исследования в тест-системах ARRIAH и IZSLER (производитель IZSLER, Италия) 810 образцов сыворотки крови от невакцинированного КРС все оказавшиеся ложноположительными пробы были отобраны от особей женского пола преимущественно репродуктивного возраста. Число совпадений результатов тестов ARRIAH и IZSLER по качественным характеристикам для подозрительных животных составило 29–36%. При этом согласование между результатами двух тестов по всей выборке образцов (n=810) равнялось 92,3%.

Положительный результат на ящур в реакции иммуноферментного анализа, полученный при обследовании невакцинированного поголовья, должен быть подтвержден в других серологических реакциях. При комплексном подходе, когда положительные сыворотки, отобранные при скрининге образцов методом ИФА, подтверждаются в реакции нейтрализации вируса ящура, вероятность получения ложноположительных результатов сводится к минимуму.

Ключевые слова: ящур, иммуноферментный анализ, крупный рогатый скот, ложноположительный результат.**STUDY OF CASES OF NON-SPECIFIC SEROPOSITIVITY IN ENZYME IMMUNOASSAY REACTIONS DURING EXAMINATION OF CATTLE UNVACCINATED AGAINST FOOT-AND-MOUTH DISEASE**

Research article

Lugovskaya N.N.^{1,*}¹ ORCID : 0009-0001-0029-6345;¹ Federal State-Financed Institution "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russian Federation

* Corresponding author (lugovskaya[at]arriah.ru)

Abstract

The aim of these studies was to analyse cases and possible causes of non-specific activity in the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to foot-and-mouth disease virus in blood serum samples from cattle and to confirm the need to clarify the status of seropositive individuals.

A total of 4,573 cattle blood serum samples were tested for antibodies to foot-and-mouth disease virus using commercial ELISA kits. During 26,089 immunoassays of various formats, there were cases of positive results that were not confirmed by other serological reactions for the presence of antibodies to structural and non-structural proteins of the foot-and-mouth disease virus. When tested in ARRIAH test systems (manufactured by FGBI "ARRIAH") on different groups of unvaccinated cattle, the proportion of false positive results was 2.14%, which was close to the acceptable values previously established in the diagnostic specificity during the validation of ARRIAH test systems for serotypes A, O, Asia 1 serotypes: 1.0%, 1.5%, 2.4%, respectively (average value — 1.63%). In a parallel study using the ARRIAH and IZSLER (manufactured by IZSLER, Italy) test systems, 810 blood serum samples from unvaccinated cattle, all of which were false positive, were selected from female animals predominantly of reproductive age. The number of matches between the ARRIAH and IZSLER test results in terms of qualitative characteristics for suspicious animals was 29–36%. At the same time, the agreement between the results of the two tests for the entire sample (n=810) was 92.3%.



A positive result for foot-and-mouth disease in an enzyme immunoassay obtained during the examination of unvaccinated cattle must be confirmed by other serological tests. With a complex approach, when positive sera selected during screening of samples by ELISA are confirmed in the foot-and-mouth disease virus neutralisation test, the likelihood of false positive results is minimised.

Keywords: foot-and-mouth disease, immunoassay, cattle, false positive result.

Введение

Ящур — особо опасная, высоко контагиозная вирусная болезнь парнокопытных животных. Восприимчивы к ящуру крупный рогатый скот (КРС), свиньи, овцы, козы, олени, антилопы, буйволы, верблюды. Источником возбудителя инфекции являются инфицированные, больные животные, а также животные — реконвалесценты, способные быть вирусоносителями на протяжении длительного времени. Ящуром болеют животные разного возраста, но наиболее уязвим молодняк в возрасте до 2–3 месяцев. Данная инфекция с характерной симптоматикой, известная с давних времён, остаётся актуальной и по сей день, поскольку способна наносить колоссальный экономический ущерб, складывающийся из потерь в результате падежа молодняка (телят, поросят, ягнят), снижения на 50–75% молочной продуктивности коров, уменьшения живого веса больных животных и абортот. Особенно большие затраты связаны с проведением карантинных мероприятий [1], [2].

Профилактическая вакцинация в регионах, граничащих с неблагополучными по ящуру территориями, регулярные мониторинговые обследования поголовья сельскохозяйственных животных, как в крупных агрохолдингах, так и в фермерских/личных подсобных хозяйствах, позволяют осуществлять строгий надзор за болезнью в соответствии с регионализацией, предусматривающей подтверждение статусов, признанных Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ): зона, свободная от ящура без вакцинации, и зона, свободная от ящура с вакцинацией.

Для достижения целей мониторинговых исследований целесообразно использовать разные тесты и учитывать различные подходы при интерпретации результатов тестирования, дифференцированный подход при обследовании вакцинированных и не вакцинированных против ящура животных, а также животных с неизвестным статусом [1].

В настоящее время для ретроспективной диагностики ящура используют два вида серологических тестов: для обнаружения антител к структурным белкам вируса (SP) и для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса (NSP). Первый вид тест-систем (SP тесты) являются серотипоспецифическими и определяют антитела, индуцированные при вакцинации или инфекции. К ним относятся реакция нейтрализации вируса ящура (РН ВЯ) и иммуноферментный анализ (ИФА): твердофазный конкурентный ИФА и жидкофазный блокирующий ИФА [1], [4], [5], [6]. На диагностическую чувствительность данных тестов может влиять соответствие (антигенное родство) вируса или антигена, использованных в реакции, с вакцинным штаммом или со штаммом, циркулирующим в полевых условиях [5]. Однако использование тест-систем данного вида не позволяет дифференцировать поствакцинальные специфические антитела от постинфекционных, поскольку при формировании иммунного ответа посредством вакцинации или инфицирования, и в том, и в другом случае, вырабатываются антитела к структурным белкам вируса ящура [3]. Для выявления переболевших животных независимо от их первоначального статуса (вакцинированные/ невакцинированные) индивидуальные образцы сыворотки крови исследуют в ИФА на наличие антител к неструктурным белкам вируса ящура. Неструктурные белки синтезируются в процессе репликации вируса ящура, но не входят в состав капсида. При производстве противоящурной вакцины инактивированное сырьё подвергается очистке от клеточного детрита и неструктурных белков. Что и позволяет идентифицировать впоследствии переболевших животных.

Небольшое количество исследуемых образцов сыворотки крови в реакции ИФА разного формата может давать ложноположительный ответ вследствие неспецифических реакций. При комплексном подходе, когда положительные сыворотки, отобранные при скрининге образцов в ИФА, подтверждаются в РН, вероятность получения ложноположительных результатов сводится к минимуму [1].

Особенно остро вопрос подтверждения положительных результатов на ящур стоит при сертифицировании экспортных и импортных животных для целей международной торговли. По правилам Таможенного союза перемещение животных между странами допускается при отсутствии у них антител против вируса ящура [7]. Большинство диагностических учреждений не имеют возможности подтверждения результатов ИФА в РН в соответствии с рекомендациями ВОЗ [1], так как для проведения подобных исследований лаборатория должна быть аккредитована по соответствующему классу биобезопасности для работы с живым вирусом ящура, относящемуся ко II классу патогенности. В таких случаях подозрительные образцы для подтверждения статуса карантинруемых животных следует направлять в аккредитованные референтные центры, имеющие класс биобезопасности не ниже III, что значительно удорожает исследования. В то же время недостаточно всесторонне, в нарушение принципа объективности и достоверности выполненные диагностические мероприятия, субъективный подход в интерпретации результатов исследований могут приводить к смещению полученных данных, искажению итоговых результатов мониторинга и, как следствие, к значительным финансовым потерям.

В данной статье мы заострили внимание на случаях неспецифических реакций, проявляющихся иногда в ИФА при тестировании проб от не вакцинированного против ящура КРС, и необходимости подтверждения статуса серопозитивных в отношении ящура особей.

Методы и принципы исследования

2.1. Материал для исследования в ИФА

В работе были использованы 4573 образца сыворотки крови от КРС, из 6 условных популяционных групп, в которых только 11 особей (шестая группа) вакцинировались против ящура:



- 1 группа — 450 образцов сыворотки крови КРС разного пола и возраста, поступивших из 25 хозяйств региона I, свободного от ящура без вакцинации;
- 2 группа — 450 образцов сыворотки крови КРС, поступивших из хозяйств региона II, свободного от ящура без вакцинации;
- 3 группа — 160 образцов сыворотки крови, отобранной в ФГБУ «ВНИИЗЖ» от КРС (бычки, возраст — 6 мес.) перед вакцинацией, 0 день;
- 4 группа — 3414 образцов сыворотки крови нетелей КРС, полученных из 8 регионов, свободных от ящура без вакцинации;
- 5 группа — 86 образцов сыворотки крови отелившихся коров из региона III, свободного от ящура без вакцинации;
- 6 группа — 11 образцов сыворотки крови КРС (бычки, возраст — 6 мес.), отобранной через 21 день после однократной иммунизации сорбированной вакциной против ящура серотипов А, О, Asia 1, и 2 образца сыворотки крови от невакцинированного контроля.

2.2. Иммуноферментный анализ (ИФА)

Образцы сыворотки крови КРС исследовали в ИФА на наличие антител к вирусу ящура. В работе использовали коммерческие наборы и тест-системы на основе жидкофазного блокирующего варианта ИФА для определения антител к структурным белкам вируса ящура серотипов А, О, Asia 1 разных штаммов, разработанных в ФГБУ «ВНИИЗЖ», в соответствии с инструкцией по применению набора; коммерческие наборы для обнаружения антител к вирусу ящура типов А, О, Asia 1 на основе конкурентного варианта ИФА представителей ведущих мировых производителей в соответствии с рекомендациями к наборам. Перечень наборов в приведённом ниже списке:

- набор для определения антител к структурным белкам вируса ящура в ИФА, типы А, О, Asia 1, ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия (ARRIAH);
- SPCE for antibodies specific to FMDV Serotype A, O, Asia 1, IZSLER, Италия & the Pirbright Institute, Великобритания (IZSLER);
- ID Screen® FMD Type A, O, Asia 1 Competition, Innovative Diagnostics, Франция (IDVet);
- AsurDx™ FMDV Type A, O, Asia 1 Antibody cELISA Test Kit, BioStone™ Animal Health, США (BioStone).

Серопозитивность (доля положительных результатов) выражали в процентах через отношение количества положительных значений процента ингибции (PI) к общему количеству исследований выборки образцов в ИФА.

Результаты и обсуждение

Иммуноферментный анализ (ИФА) — один из самых востребованных методов в диагностической практике медицинских и ветеринарных лабораторий. Как и любые иммунохимические методы анализа, ИФА может давать ложноположительные результаты, что не снижает ценности ИФА как диагностического инструмента [8]. Этот риск следует учитывать при интерпретации результатов и проводить дополнительные исследования для подтверждения во избежание неправильной постановки диагноза.

На факт вероятности получения ложноположительных реакций на ящур в ИФА акцентирует внимание Руководство ВОЗ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных. Для минимизирования диагностических ошибок предлагается комбинированный подход в исследованиях, сочетающий скрининговые SP тесты и РН для подтверждения положительных результатов [1].

Для оценки масштаба неспецифической реакции в ИФА при обследовании КРС, не вакцинированного против ящура, было протестировано 4560 образцов сыворотки крови, входящих в разные выборки образцов: полевые сыворотки — группы 1, 2, 4, 5; опытные сыворотки — группа 3. Основным инструментом для исследований служили наборы производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (ARRIAH) на основе тест-систем для определения антител к структурным белкам вируса ящура разных серотипов, в качестве референтного теста использовали наборы IZSLER (SP тест). Поскольку в задачи наших исследований входило не сравнение специфичности разных тест-систем и наборов, а изучение явления в целом, данные ИФА анализировались без разделения на серотипы. Каждый образец из 4560 тестировали в 4-7 реакциях жидкофазного блокирующего варианта ИФА (ARRIAH), 810 образцов — в 3 реакциях конкурентного варианта ИФА (IZSLER). Результаты исследований отражены на рис. 1 и 2.

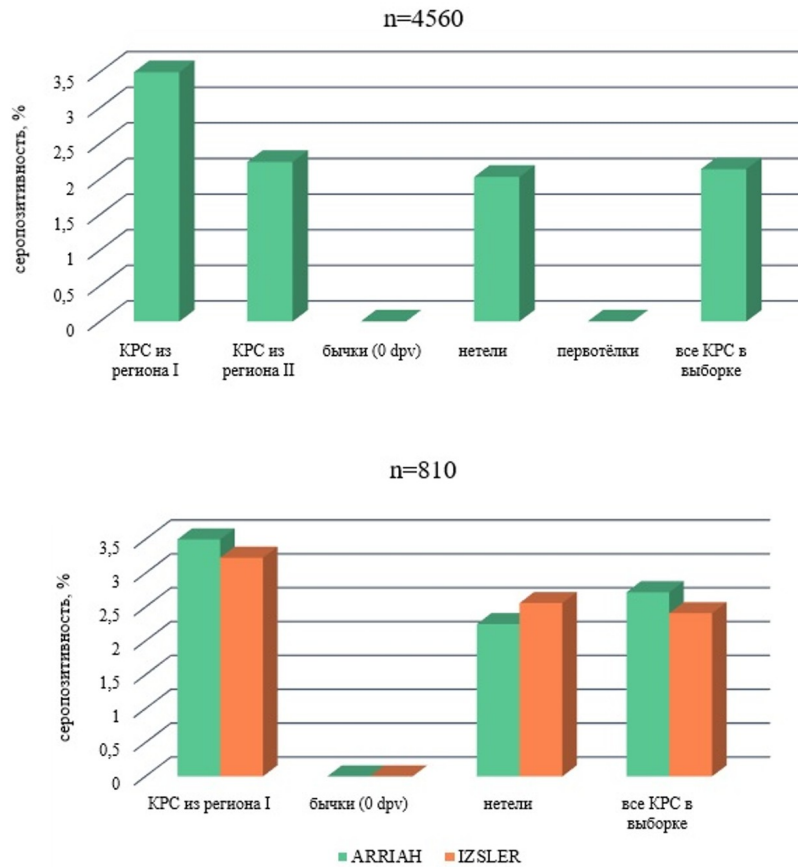


Рисунок 1 - Серопозитивность, определённая в ИФА с использованием тест-систем ARRIAN и IZSLER для разных групп не вакцинированного против ящура КРС
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19.1>

Как показывает анализ рис. 1, количество случаев неспецифической реакции в ИФА варьировало для разных выборок образцов сыворотки крови КРС. При тестировании 4560 образцов в тест-системах ARRIAN разброс значений составил 0–3,58%. Подобную картину наблюдали и при исследовании отдельных выборок образцов (группы 1, 3, 4 выборочно) в количестве 810 сывороток в системах IZSLER, при этом серопозитивность КРС в группах была на уровне 0–3,23%.

Группы 1 и 2 представляли собой полевые образцы сыворотки крови КРС из разных регионов. Все 900 образцов предварительно были исследованы на наличие антител к неструктурным белкам вируса ящура с использованием набора для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса ящура иммуноферментным методом в сыворотках крови крупного и мелкого скота производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (Ящур-NSP-ИФА). Подозрительные образцы, имевшие положительные значения PI хотя бы в одной реакции ИФА для выявления специфических антител к структурным белкам вируса ящура, дополнительно проверяли в реакции нейтрализации (РН) вируса ящура разных серотипов. Ни в одном из протестированных образцов сыворотки крови КРС антител, как к структурным белкам вируса ящура, так и к неструктурным, обнаружено не было.

В состав группы 1 входили коровы возраста 2–13 лет — 82,7%, 6–12-месячные тёлки — 8%, бычки 6–19 мес — 9,3%. Из 25 сельскохозяйственных предприятий региона I в 4 хозяйствах имелись отдельные серопозитивные в отношении ящура особи, определённые таковыми либо в иммуноферментных тест-системах ARRIAN, либо IZSLER; в 10 — в тест-системах и того, и другого производителя; в 7 не выявили ни одной положительно реагирующей особи КРС. Серопозитивность в тест-системах ARRIAN демонстрировали коровы разного возраста и 8–12-месячные тёлки в 2,81% и 0,77% случаев, соответственно, в тест-системах IZSLER — коровы в 3,23% случаев. Положительный статус был установлен для 36% подозрительных образцов сыворотки крови КРС при использовании, как наборов ARRIAN, так и IZSLER. В то время как для 64% подозрительных образцов согласование между наборами отсутствовало: положительные в тест-системах одного производителя были отрицательными в тест-системах другого производителя, и наоборот. То есть положительные результаты реакции подтверждены не были.

Образцы из региона II проверяли на наличие специфических антител против вируса ящура только в тест-системах ARRIAN. Неспецифическая серопозитивность КРС составила 2,24% (рис. 1).

Группа 3 включала 160 образцов сыворотки крови, отобранных от 6-месячных бычков перед вакцинацией (0 фру) в ФГБУ «ВНИИЗЖ». 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. Животные поставлялись в разное время небольшими партиями, содержались в одинаковых условиях, стрессовая нагрузка была минимальной, условия отбора крови соблюдались. При тестировании данных образцов сыворотки крови в ИФА не было зарегистрировано ни одного положительного значения PI (ARRIAH, IZSLER). Так же как и при обследовании 86 отелившихся коров, группа 5 (ARRIAH).

Группа 4 включала 3414 образцов сыворотки крови нетелей разного срока стельности. При тестировании этих проб в ИФА были выявлены случаи неспецифических реакций неизвестной этиологии, как и при обследовании животных из групп 1 и 2. Тактический подход при интерпретации результатов был аналогичным. Наличие антител к структурным и неструктурным белкам вируса ящура было исключено по данным ИФА (Ящур-NSP-ИФА) и РН вируса ящура разных серотипов. Тем не менее, в ИФА при выявлении антител к структурным белкам вируса ящура имели место положительные значения PI для отдельных проб: в тест-системах ARRIAH 2,03% при полном тестировании всех образцов от нетелей (n=3414) и 2,25% - при выборочном (n=200), в тест-системах IZSLER серопозитивность реакции составила 2,56% при проверке 200 проб от КРС (рисунок 1, n=4560, n=810). Согласования между результатами, полученными в тест-системах ARRIAH и IZSLER, для ложноположительных образцов практически не было: совпадения по качественной реакции составили 29%, не совпали 71% подозрительных образцов.

Однако согласованность результатов между наборами ARRIAH и IZSLER по каждой выборке образцов была более 90% (табл. 1).



Таблица 1 - Согласованность результатов ИФА между тест-системами ARRIAH и IZSLER при исследовании образцов сыворотки крови КРС, не вакцинированного против ящура

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19.2>

Животные	Количество образцов в выборке	Неспецифическая серопозитивность, % (ARRIAH)	Неспецифическая серопозитивность, % (IZSLER)	Согласованность по ложноположительным результатам, %	Согласованность по выборке образцов, %
КРС из региона I	450	3,58	3,23	36,1	90,4
Нетели	200	2,25	2,56	29,2	91,5
Бычки, 0 др ^{v1}	160	0	0	-	100
Все КРС	810	2,72	2,41	34,1	92,3

Примечание: др^{v1} – дни после вакцинации

Чтобы продемонстрировать уровень неспецифического взаимодействия, было выполнено распределение ложноположительных результатов по значениям PI. Как видно на рис. 2, большинство образцов, квалифицированных как положительные (до 1,43% — ARRIAH, до 2,07% — IZSLER), имели низкие, околопороговые значения PI: ARRIAH — $PI_{pos} \geq 50\%$, IZSLER — $PI_{pos} \geq 70\%$, и входили в «серую зону». Что свидетельствовало о невысоком уровне неспецифической реакции.

Несогласованность ложноположительных результатов ARRIAH и IZSLER, а также отсутствие подтверждения в других серологических реакциях на ящур характеризовали хаотичное, спонтанное неспецифическое взаимодействие белков в реакции ИФА. Специфическое взаимодействие имеет другой характер.

Пример исследования 11 поствакцинальных и 2 контрольных образцов сыворотки крови КРС, отобранных на 21 день после однократного введения сорбированной вакцины против ящура серотипов А, О, Asia 1, с подтверждением в других серологических реакциях, включая референтные диагностические наборы и РН вируса ящура, генетически и антигенно родственного вакцинным штаммам, представлен на рис. 3. Как показывает анализ рис. 3, на 21 день после введения вакцины 6-месячные бычки демонстрировали хороший иммунный ответ в разных тест-системах ИФА и РН для серотипов А, О, Asia 1. В пробах от двух невакцинированных бычков (контроль) специфических антител обнаружено не было. В целом, картина выстраивалась логичная и закономерная. Результаты ИФА и РН имели хорошее согласование между собой.

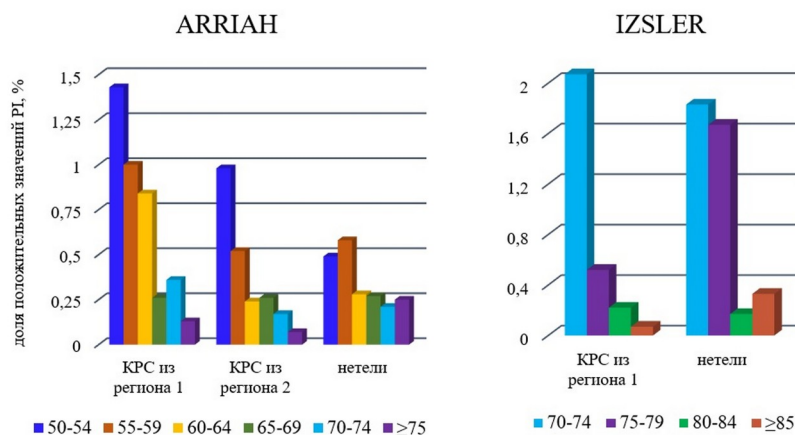


Рисунок 2 - Распределение положительных значений PI, полученных в тест-системах ARRIAH или IZSLER для образцов сыворотки крови не вакцинированного против ящура КРС

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19.3>

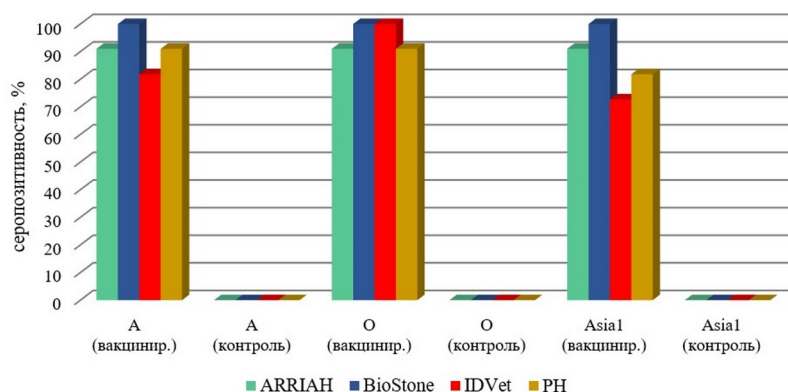


Рисунок 3 - Результаты исследования в ИФА и РН образцов сыворотки крови КРС на напряжённость иммунитета против ящура серотипов А, О, Asia 1 однократно привитых сорбированной противоящурной вакциной и не привитых (контроль) животных

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19.4>

Многие тест-системы для диагностики ящура, как поликлональные, так и моноклональные, используют блокирующий/конкурентный вариант ИФА, положительный результат которого выражается в комплементарном связывании антигенных детерминант, расположенных на поверхности капсида вируса ящура, с активными центрами

специфических иммуноглобулинов в исследуемой сыворотке, что на следующем этапе реакции является препятствием для взаимодействия конкурентных/детекторных антител с антигенными сайтами с образованием вторичного иммунного комплекса «антиген-антитело». Происходит полное или частичное блокирование. Но в отсутствие специфических антител блокирование (перекрытие) антигенных сайтов вероятно могут вызывать неспецифические белки. В поликлональных тест-системах в реакции задействовано несколько антигенных сайтов с поверхности каждой из 60-ти копий протомерной субъединицы, составляющих капсид, в моноклональных тест-системах, как правило, один сайт. Степень неспецифической реакции может зависеть от количества перекрываемых участков. Поэтому в таких случаях требуется подтверждение положительных и сомнительных результатов, полученных в реакции ИФА, в других серологических реакциях, главным образом, в РН, как и рекомендует ВОЗЖ [1].

На достоверность результатов серологических исследований может влиять качество сыворотки крови: бактериальная контаминация, гемолиз. Для лабораторных испытаний отбирают только венозную кровь по возможности утром, до кормления животных или по истечении 4 часов после кормления для жвачных животных (крупный и мелкий рогатый скот). Процесс отбора проб крови должен быть максимально безболезненным и быстрым (беспокойство, болевая реакция, длительный венозный застой в месте инъекции изменяют состав крови). На результаты лабораторных исследований могут влиять факторы, связанные с индивидуальными особенностями и физиологическим состоянием организма животного, такие как возраст, нервный стресс, воспалительные процессы, различные хронические заболевания, которые могут быть вызваны, как инфекциями, так и гельминтозами, а также аллергическими реакциями на чужеродные (неспецифические) белки [9], [10], [11]. Всё, что может способствовать накоплению неспецифического белка в сывороточных образцах и препятствовать полноценному прохождению реакции ИФА.

При анализе данных, полученных в ходе проведённых исследований, нами было сделано предположение о связи повышенного гормонального фона у КРС, вызванного острым или хроническим стрессом, с частотой регистрации неспецифической реакции на ящур в ИФА.

У большинства млекопитающих, в том числе, и КРС, основным гормоном, секретируемым клетками пучковой оболочки коры надпочечников, является кортизол. Он играет важную роль в метаболизме жиров, белков и углеводов и участвует в широком спектре физиологических процессов организма человека и животных. Секретция кортизола в организме происходит под контролем гипоталамо-гипофизонадпочечниковой оси по определенному циркадному ритму и может существенно повышаться в ответ на физиологический стресс. Существует огромное количество внешних и внутренних факторов, вызывающих стресс. В зависимости от продолжительности их воздействия стресс может быть острым или хроническим. Уровень кортизола может увеличиваться на короткий период времени при остром стрессе, чтобы обеспечить глюкозой клетки организма для реагирования на стресс. Как только острая реакция на стресс утихает, уровень кортизола возвращается к нормальному (базовому) уровню [12].

У сельскохозяйственных животных стрессовые реакции могут вызывать такие манипуляции, как обработка, транспортировка, обезроживание. Удержание животных является кратковременным стрессором, приводящим к довольно быстрому повышению уровня кортизола. Взятие крови у животных, связанные с процедурой болевые ощущения, испуг могут вызвать мгновенный выброс кортизола. Концентрация глюкокортикоидов также изменяется в зависимости от возраста. В основном наблюдается повышение их содержания при старении у многих видов животных [12].

Беременность можно отнести к хроническому стрессу. Гормоны коры надпочечников участвуют в формировании и поддержании беременности. Показана связь уровня кортизола в крови нетелей разных пород со сроком стельности [13], [14], [15]. До 3 месяца стельности уровень кортизола существенно не изменялся по сравнению с показателями до осеменения. Видимые изменения его концентрации наблюдались на 5 месяце стельности. На 7 месяце стельности уровень кортизола резко увеличился и продолжал возрастать, достигая максимальных значений на 9 месяце. Полученные результаты о влиянии беременности на уровень кортизола в плазме крови согласовывались с данными других исследователей, указывающих, что нормально протекающая беременность сопровождается повышением содержания в крови глюкокортикоидов по мере прогрессирования беременности. При этом было отмечено, что наиболее высокие уровни кортизола во второй половине стельности сохранялись у помесных нетелей при скрещивании симментальской и абердин-ангусской пород по отношению к голштинизированной чёрно-пёстрой и симментальской породам [13]. Во все периоды стельности относительно более высокий уровень общего кортизола был отмечен у нетелей породы джерси по сравнению с породами монбельярд, красно-пёстрая и голштинизированная чёрно-пёстрая [14].

Также регистрировали изменения концентрации кортизола в крови коров голштинизированной чёрно-пёстрой породы разной молочной продуктивности. Наивысшая концентрация кортизола наблюдалась на 2 месяце лактации (пик лактации) с последующими постепенным понижением к 8 месяцу и увеличением к концу лактации — 10 месяцу. При этом концентрация кортизола во все периоды лактации была выше в группе коров с самой высокой продуктивностью [16].

Известный статус нетелей позволяет рассмотреть повышенный гормональный фон, как одну из возможных причин проявления неспецифической реакции в ИФА. В процессе подготовки данной статьи было исследовано 3414 образцов сыворотки крови, отобранной от карантинных нетелей голштинской породы, характеризующейся высокой молочной продуктивностью и хорошей адаптивностью, из регионов, свободных от ящура без вакцинации. Отдельные образцы показывали положительный результат в ИФА (рис. 1, 2). От подозрительных животных либо от всего обследуемого стада была отобрана или запрошена в хозяйстве-поставщике сыворотка крови для повторного анализа. Результаты тестирования представлены в табл. 2, на рис. 4. При обследовании в ИФА КРС (нетели, первотёлки) из 7 хозяйств в разные периоды времени были получены отличающиеся результаты для одних и тех же животных, что свидетельствовало о динамических процессах, как в сторону увеличения неспецифических проявлений, так и

уменьшения. К сожалению, мы не всегда располагали исчерпывающей информацией о животных для проведения детального анализа. Однако при рассмотрении отдельных ситуаций удавалось проследить определённую закономерность.

Таблица 2 - Анализ ложноположительных реакций на ящур в ИФА (ARRIAH) у нетелей и первотёлок КРС при тестировании парных образцов сыворотки крови

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19.5>

Хозяйство/отбор крови	Срок отбора крови (срок стельности/отёл)	Неспецифическая серопозитивность, %
1/I	~8 мес стельности	6,2
1/II	не позднее 2 нед после отёла	0
2/I	~8 мес стельности	3,8
2/II	~9 мес стельности/отёлы в карантине	1,4
3/I	5 мес стельности	0
3/II	6 мес стельности	2,3
3/III	~6,5 мес стельности	1,5
3/IV	~7,5 мес стельности	1,3
4/I	~6 мес стельности	1,7
4/II	~6,5 мес стельности	2,3
5/I	нет данных	3,0
5/II	через 2 нед после I отбора	2,4
5/III	через 2 нед после II отбора	1,9
6/I	нет данных	0,8
6/II	через 2 нед после I отбора	1,7
7/I	нет данных	1,8
7/II	через 2 нед после I отбора	0

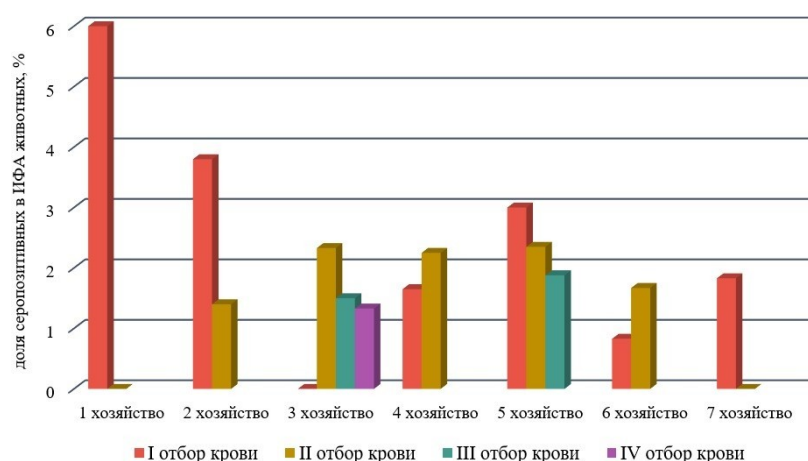


Рисунок 4 - Серопозитивность на ящур в ИФА (ARRIAH) нетелей и первотёлок КРС при тестировании парных образцов сыворотки крови

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19.6>

Наиболее показательными были результаты ИФА, полученные при тестировании парных образцов сыворотки крови от КРС из хозяйств 1, 2, 3. Между I и II отбором крови был значительный временной интервал в 1–1,5 мес. Серопозитивность стада в хозяйстве 1 снизилась с 6,2% при ~8-месячной стельности животных до 0% спустя примерно две недели после отёла. Похожая картина наблюдалась и в хозяйстве 2 при отборе крови у частично отелившегося КРС. Относительно нетелей в хозяйстве 3 картина была обратная: при 5-месячной стельности не было выявлено ни одной серопозитивной особи, в то время как месяц спустя констатировали наличие 2,3% положительно реагирующих образцов сыворотки крови. Резкие различия между результатами в ИФА при первом и повторном

отборах крови могут указывать на влияние некоего фактора или факторов. Мы предполагаем, что в данных случаях имело место существенное изменение уровня гормонального фона.

Последующие отборы крови от нетелей в хозяйстве 3, а также три последовательных отбора в хозяйстве 5 подтвердили ложноположительные результаты на ящур в ИФА большинства подозрительных особей из этих хозяйств, что свидетельствовало о длительном воздействии фактора, провоцирующего неспецифические проявления в реакции ИФА. Однако несколько животных, имевших первоначально положительный статус, при повторном тестировании оказались серонегативными. Возможно это было связано с острым кратковременным стрессом, либо с низким уровнем неспецифической реакции в области «серой зоны», в результате чего один и тот же образец при повторных исследованиях может демонстрировать то положительный, то отрицательный результат. Также следует отметить, что третий и четвёртый отборы крови в карантинном стаде хозяйства 3 и второй и третий отборы в хозяйстве 5 производились только от подозрительных нетелей. Вероятно при полном обследовании стад картина была бы несколько другая.

В хозяйствах 4 и 6 ожидаемо наблюдали повышение количества ложноположительных образцов с увеличением срока стельности. Для нетелей из хозяйства 7, серопозитивных при первом отборе проб крови, через 2 недели при исследовании в ИФА парных сывороток крови были получены отрицательные значения PI. Это можно объяснить, например, кратковременным выбросом кортизола при первом отборе крови.

В любом случае все вышеописанные примеры положительного реагирования на ящур в ИФА образцов сыворотки крови от невакцинированного КРС требуют дополнительных исследований. Констатация факта получения положительных результатов в ИФА при скрининговом тестировании образцов сыворотки крови от невакцинированного КРС не является подтверждением наличия специфических антител к вирусу ящура в крови данных животных.

При использовании в исследованиях на ящур коммерческих наборов для определения антител к структурным белкам вируса ящура производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (ARRIAN) подтверждение положительных результатов тестирования ($PI_{pos} \geq 50\%$) проводят в соответствии с рекомендациями ВОЗЖ для жидкофазного блокирующего варианта ИФА. Образцы сыворотки крови от не вакцинированных против ящура животных, положительно реагирующих в ИФА, исследуют повторно методом последовательных разведений. Конечная точка титрования (титр) сыворотки определяется по значению PI, равному или более 50%. При этом титр сыворотки ≤ 64 является отрицательным (положительное значение PI в одной из двух лунок в разведении 1:64), ≥ 90 — положительным (положительное значение PI в двух лунках в разведении 1:64). В случае получения положительного результата может быть запрошен образец сыворотки крови, повторно отобранный от данного животного. Положительный статус считается установленным, если титр сыворотки в ИФА имеет значение 45 (положительное значение PI в двух лунках в разведении 1:32) и выше. При получении положительных или сомнительных результатов в ИФА для образцов сыворотки крови от не вакцинированных против ящура животных или животных с неизвестным статусом требуется их подтверждение в РН вируса ящура [1].

Заключение

В данной работе было проведено 26089 тестов образцов сыворотки крови не вакцинированного против ящура КРС, из них 22728 тестов — с использованием наборов ARRIAN, 3121 тестов — IZSLER, что позволило сделать определённые выводы. В реакции ИФА разных форматов, как в тест-системах ARRIAN, так и IZSLER, было получено некоторое количество положительных результатов, не подтвердившихся в других серологических реакциях на наличие антител к структурным и неструктурным белкам вируса ящура. В связи с чем эти образцы были квалифицированы как ложноположительные. Однако такое явление не имело массового характера. При обследовании в тест-системах ARRIAN разных групп КРС, не вакцинированного против ящура, доля ложноположительных результатов составила 2,14%, что близко к допустимым значениям, установленным нами ранее в рамках определения диагностической специфичности при валидации тест-систем ARRIAN для серотипов А, О, Asia 1: 1,0%, 1,5%, 2,4%, соответственно [6]. Диагностическая специфичность тест-систем для ретроспективной диагностики ящура (SP тесты) при обследовании невакцинированного скота является статистической величиной и зависит от выборки образцов для исследования. При этом значение имеют пол, возраст, физиологическое состояние животных. При параллельном исследовании в тест-системах ARRIAN и IZSLER 810 образцов сыворотки крови от невакцинированного КРС все оказавшиеся серопозитивными в ИФА особи были женского пола преимущественно репродуктивного возраста. Уровень неспецифической реакции был низким, большинство образцов имели окологороговые значения PI. Число совпадений результатов тестов ARRIAN и IZSLER по качественным характеристикам для подозрительных животных составило 29–36%. При этом согласование между результатами двух тестов по всей выборке образцов ($n=810$) равнялось 92,3%.

Таким образом, для соблюдения объективности и достоверности диагностических мероприятий положительный результат на ящур в ИФА, полученный при обследовании невакцинированного поголовья, должен быть подтверждён. Все подозрительные на ящур образцы сыворотки крови КРС необходимо исследовать на наличие антител к структурным белкам вируса ящура в реакции нейтрализации вируса ящура разных серотипов.

**Финансирование**

Работа проведена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

Благодарности

Автор выражает благодарность сотрудникам лаборатории профилактики ящура, референтной лаборатории диагностики ящура и референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ» за содействие в сборе материала для проведения исследований и анализа данных.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Бардахчиева Л.В., Нижегородский государственный агротехнологический университет, Нижний Новгород
Российская Федерация
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19.7>

Funding

The work was carried out with funds from the FGBI "ARRIAH" as part of research work on the topic "Veterinary Welfare".

Acknowledgement

The author expresses their gratitude to the staff of the foot-and-mouth disease prevention laboratory, the foot-and-mouth disease reference laboratory, and the reference laboratory for particularly dangerous diseases at the Federal State-Financed Institution "Federal Centre for Animal Health" for the assistance in collecting material for research and data analysis.

Conflict of Interest

None declared.

Review

Bardakhchieva L.V., Nizhny Novgorod State Agrotechnological University, Nizhny Novgorod Russian Federation
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2026.164.19.7>

Список литературы / References

1. Foot and mouth disease (infection with foot and mouth disease virus) // WOAHP. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. — 2025. — Pt. 3.1.8. — URL: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.08_FMD.pdf (accessed: 06.10.2025).
2. Важная информация о вирусной болезни с названием Ящур // ГБУ Ленинградской области «Станция по борьбе с болезнями животных Приозерского района» (СББЖ). — <https://sbbjpriozersk.ru/2016/11/28/vajnaya-informaciya-virus-yashur/> (дата обращения: 06.10.2025)
3. Hamblin C. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. III. Evaluation of antibodies after infection and vaccination / C. Hamblin, R.P. Kitching, A.I. Donaldson [et al.] // *Epidemiology and Infection*. — 1987. — № 99 (3). — P. 733–744. — DOI: 10.1017/s0950268800066590.
4. Луговская Н.Н. Диагностическая тест-система для выявления антител к структурным белкам вируса ящура генотипа SAT2/VII в жидкофазном блокирующем варианте ИФА / Н.Н. Луговская, Е.А. Силантьева, Д.В. Михалишин [и др.] // *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. — 2023. — № 4. — С. 43–52. — DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-43-52.
5. Луговская Н.Н. Разработка и применение иммуноферментной тест-системы для оценки гуморального иммунитета против вируса ящура топотипа SAT2/XIV / Н.Н. Луговская, Ю.С. Елькина, М.А. Шевченко [и др.] // *Ветеринария сегодня*. — 2025. — № 14 (3). — С. 283–293. — DOI: 10.29326/2304-196X-2025-14-3-283-293.
6. Луговская Н.Н. Валидация методики определения уровня противоящурных антител в реакции жидкофазного блокирующего «сандвич»-варианта иммуноферментного анализа / Н.Н. Луговская, Е.Н. Калинина, К.С. Малкова [и др.] // *Ветеринария сегодня*. — 2015. — № 3. — С. 22–29.
7. Глава 1. Ветеринарные требования при ввозе на таможенную территорию Евразийского экономического союза и (или) перемещении между государствами-членами племенного и пользовательного крупного рогатого скота (в ред. решений Коллегии Евразийской экономической комиссии от 04.12.2012 № 254, от 08.12.2015 № 160) // Единые ветеринарные (ветеринарно-санитарные) требования, предъявляемые к товарам, подлежащим ветеринарному контролю (надзору). Утверждены Решением Комиссии Таможенного союза от 18 июня 2010 года №317. — URL: <https://eec.eaunion.org/upload/medialibrary/2f3/Ed.vet.treb.-s-izmen.pdf> (дата обращения: 06.10.2025)
8. Москалец О.В. Иммуноферментный анализ в практике клинициста / О.В. Москалец // *Клинический разбор в общей медицине*. — 2022. — № 6. — С. 19–23. — DOI: 10.47407/kr2022.3.6.00171.
9. Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования (Утверждены Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 24 июня 1971 г. взамен Правил, утвержденных 4 июля 1958 г.). — URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200109238> (дата обращения: 06.10.2025).
10. Рекомендации по правилам взятия проб крови от крупного рогатого скота // Жуковская районная станция по борьбе с болезнями животных. — <http://zhukovskaya-vet.ru/ispytatelnaya-laboratoriya/rekomendaczii-po-pravilam-vzyatiya-prob-krovi-ot-kрупного-rogatogo-skota.html> (дата обращения: 06.10.2025)
11. Альтшулер Б.Ю. Факторы, влияющие на результат лабораторных исследований / Б.Ю. Альтшулер. — URL: <https://www.clinica-shmidta.ru/educational-material/factory-vliyayushchie-na-rezultat-laboratornykh-issledovaniy/> (дата обращения: 06.10.2025)
12. Новгородова И.П. Методы определения концентрации кортизола у животных / И.П. Новгородова // *Аграрная наука*. — 2024. — № 381 (4). — С. 35–43. — DOI: 10.32634/0869-8155-2024-381-4-35-43.
13. Ерёменко В.И. Динамика кортизола и тестостерона в крови нетелей разных пород / В.И. Ерёменко, Е.Г. Ростмировская // *Учёные записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*. — 2021. — № 7 (73). — С. 57–63. — DOI: 10.37279/2413-1725-2021-7-1-57-63.



14. Ерёмченко В.И. Динамика кортизола в крови нетелей разных пород / В.И. Ерёмченко, А.Е. Сидоров, В.С. Скобелев // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. — 2022. — № 3. — С. 73–76. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-kortizola-v-krovi-neteley-raznyh-porod> (дата обращения: 06.10.2025)

15. Ерёмченко В.И. Динамика изменения кортизола в крови нетелей чёрно-пёстрой породы / В.И. Ерёмченко, А.В. Бледнова // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. — 2023. — № 5. — С. 77–80. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-izmeneniya-kortizola-v-krovi-neteley-chno-pestroy-porody> (дата обращения: 06.10.2025)

16. Ерёмченко В.И. Изменения концентрации кортизола у разных групп высокопродуктивных коров голштинизированной чёрно-пёстрой породы линии быка Рефлекшен Соверинг / В.И. Ерёмченко, А.В. Вепренцева, А.А. Лысых [и др.] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. — 2023. — № 7. — С. 125–128. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/izmeneniya-kontsentratsii-kortizola-u-raznyh-grupp-vysokoproduktivnyh-korov-golshtinizirovannoy-chno-pestroy-porody-linii-byka/viewer> (дата обращения: 06.10.2025)

Список литературы на английском языке / References in English

1. Foot and mouth disease (infection with foot and mouth disease virus) // WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. — 2025. — Pt. 3.1.8. — URL: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.08_FMD.pdf (accessed: 06.10.2025).

2. Vazhnaya informatsiya o virusnoi bolezni s nazvaniem Yashchur [Important information about a viral disease called foot-and-mouth disease] // Leningrad Oblast State Budgetary Institution 'Priozersk District Animal Disease Control Station' (ADCS). — <https://sbbjprizorsk.ru/2016/11/28/vajnyaya-informatsiya-virus-yashur/> (accessed: 06.10.2025) [in Russian]

3. Hamblin C. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. III. Evaluation of antibodies after infection and vaccination / C. Hamblin, R.P. Kitching, A.I. Donaldson [et al.] // *Epidemiology and Infection*. — 1987. — № 99 (3). — P. 733–744. — DOI: 10.1017/s0950268800066590.

4. Lugovskaya N.N. Diagnosticheskaya test-sistema dlya viyavleniya antitel k strukturnim belkam virusa yashchura genotipa SAT2/VII v zhidkofaznom blokiruyushchem variante IFA [Diagnostic test system for detecting antibodies to structural proteins of foot-and-mouth disease virus genotype SAT2/VII in a liquid-phase blocking variant of ELISA] / N.N. Lugovskaya, Ye.A. Silanteva, D.V. Mikhailishin [et al.] // *Aktualnie voprosi veterinarnoi biologii* [Current Issues in Veterinary Biology]. — 2023. — № 4. — P. 43–52. — DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-43-52. [in Russian]

5. Lugovskaya N.N. Razrabotka i primeneniye immunofermentnoi test-sistemi dlya otsenki gumornal'nogo immuniteta protiv virusa yashchura topotipa SAT2/XIV [Development and application of an immunoenzymatic test system for assessing humoral immunity against foot-and-mouth disease virus topotype SAT2/XIV] / N.N. Lugovskaya, Yu.S. Yelkina, M.A. Shevchenko [et al.] // *Veterinariya segodnya* [Veterinary Medicine Today]. — 2025. — № 14 (3). — P. 283–293. — DOI: 10.29326/2304-196X-2025-14-3-283-293. [in Russian]

6. Lugovskaya N.N. Validatsiya metodiki opredeleniya urovnya protivoyashchurnikh antitel v reaktsii zhidkofaznogo blokiruyushchego «sendvich»-varianta immunofermentnogo analiza [Validation of a method for determining the level of anti-foot-and-mouth disease antibodies in a liquid-phase blocking sandwich variant of enzyme-linked immunosorbent assay] / N.N. Lugovskaya, Ye.N. Kalinina, K.S. Malkova [et al.] // *Veterinariya segodnya* [Veterinary Medicine Today]. — 2015. — № 3. — P. 22–29. [in Russian]

7. Glava 1. Veterinarnie trebovaniya pri vvoze na tamozhennuyu territoriyu Yevraziiskogo ekonomicheskogo soyuza i (ili) peremeshchenii mezhdru gosudarstvami-chnlenami plemennogo i polzovatel'nogo krupnogo rogatogo skota (v red. reshenii Kollegii Yevraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 04.12.2012 № 254, ot 08.12.2015 № 160) [Chapter 1. Veterinary requirements for the importation into the customs territory of the Eurasian Economic Union and (or) movement between member states of breeding and productive cattle (as amended by decisions of the Board of the Eurasian Economic Commission dated 04.12.2012 No. 254, No. 160 dated 08.12.2015)] // Uniform veterinary (veterinary and sanitary) requirements for goods subject to veterinary control (supervision). Approved by Decision of the Customs Union Commission No. 317 dated 18 June 2010.. — URL: <https://eec.eaunion.org/upload/medialibrary/2f3/Ed.vet.treb.-s-izmen.pdf> (accessed: 06.10.2025) [in Russian]

8. Moskalets O.V. Immunofermentnii analiz v praktike klinitsista [Immunoenzymatic analysis in clinical practice] / O.V. Moskalets // *Klinicheskii razbor v obshchei meditsine* [Clinical analysis in general medicine]. — 2022. — № 6. — P. 19–23. — DOI: 10.47407/kr2022.3.6.00171. [in Russian]

9. Pravila vzyatiya patologicheskogo materiala, krovi, kormov i peresilki ikh dlya laboratornogo issledovaniya [Rules for collecting pathological material, blood, feed, and sending them for laboratory testing] (Approved by the Main Veterinary Administration of the Ministry of Agriculture of the USSR on 24 June 1971, replacing the Rules approved on 4 July 1958). — URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200109238> (accessed: 06.10.2025). [in Russian]

10. Rekomendatsii po pravilam vzyatiya prob krovi ot krupnogo rogatogo skota [Recommendations on rules for taking blood samples from cattle] // Zhukovskaya District Animal Disease Control Station. — <http://zhukov-vet.ru/ispitatelnaya-laboratoriya/rekomendaczii-po-pravilam-vzyatiya-prob-krovi-ot-krupnogo-rogatogo-skota.html> (accessed: 06.10.2025) [in Russian]

11. Altshuler B.Yu. Faktori, vliyayushchie na rezultat laboratornikh issledovaniy [Factors affecting the results of laboratory tests] / B.Yu. Altshuler. — URL: <https://www.clinica-shmidta.ru/educational-material/factory-vliyayushchie-na-rezultat-laboratornykh-issledovaniy/> (accessed: 06.10.2025) [in Russian]

12. Novgorodova I.P. Metodi opredeleniya kontsentratsii kortizola u zhivotnikh [Methods for determining cortisol concentration in animals] / I.P. Novgorodova // *Agrarnaya nauka* [Agricultural Science]. — 2024. — № 381 (4). — P. 35–43. — DOI: 10.32634/0869-8155-2024-381-4-35-43. [in Russian]



13. Yeryomenko V.I. Dinamika kortizola i testosterona v krovi netelei raznikh porod [Dynamics of cortisol and testosterone in the blood of heifers of different breeds] / V.I. Yeryomenko, Ye.G. Rostmistrovskaya // Uchyonие zapiski Krimskogo federalnogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya [Scientific notes of the V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry]. — 2021. — № 7 (73). — P. 57–63. — DOI: 10.37279/2413-1725-2021-7-1-57-63. [in Russian]
14. Yeryomenko V.I. Dinamika kortizola v krovi netelei raznikh porod [Cortisol dynamics in the blood of heifers of different breeds] / V.I. Yeryomenko, A.E. Sidorov, V.S. Skobelev // Vestnik Kurskoi gosudarstvennoi selskokhozyaistvennoi akademii [Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy]. — 2022. — № 3. — P. 73–76. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-kortizola-v-krovi-neteley-raznyh-porod> (accessed: 06.10.2025) [in Russian]
15. Yeryomenko V.I. Dinamika izmeneniya kortizola v krovi netelei chyorno-pyostroi porodi [Dynamics of cortisol changes in the blood of black-and-white heifers] / V.I. Yeryomenko, A.V. Blednova // Vestnik Kurskoi gosudarstvennoi selskokhozyaistvennoi akademii [Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy]. — 2023. — № 5. — P. 77–80. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-izmeneniya-kortizola-v-krovi-neteley-chno-pestroy-porody> (accessed: 06.10.2025) [in Russian]
16. Yeryomenko V.I. Izmeneniya kontsentratsii kortizola u raznikh grupp visokoproduktivnykh korov golshтинizirovannoi chyorno-pyostroi porodi linii bika Reflekshe Sovering [Changes in cortisol concentration in different groups of highly productive Holsteinised black-and-white cows of the Reflection Sovereign bull line] / V.I. Yeryomenko, A.V. Veprentseva, A.A. Lisikh [et al.] // Vestnik Kurskoi gosudarstvennoi selskokhozyaistvennoi akademii [Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy]. — 2023. — № 7. — P. 125–128. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/izmeneniya-kontsentratsii-kortizola-u-raznyh-grupp-vysokoproduktivnykh-korov-golshтинizirovannoy-chno-pestroy-porody-linii-byka/viewer> (accessed: 06.10.2025) [in Russian]