

СООТНОШЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ ВИРУСОВ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ОБРАЗЦОВ АССОЦИИРОВАННЫХ ИНАКТИВИРОВАННЫХ ВАКЦИН С ПРИМЕНЕНИЕМ БЕЛКА ВИРУСА РСИ КРС**Красочко П.П., Колесникович К.В.**

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Несмотря на достигнутые успехи в борьбе с вирусными респираторными болезнями крупного рогатого скота, эта проблема остается актуальной. Вакцинация в настоящее время – один из основных способов повышения сохранности животных. Подбор соответствующего адъюванта при конструировании вакцины является одним из ключевых моментов, обеспечивающих успешную вакцинацию. Адъюванты повышают иммуногенность разрабатываемых вакцин и снижают расход антигенов, входящих в состав вакцин. **Ключевые слова:** респираторные болезни, крупный рогатый скот, респираторно-синцитиальная инфекция, вакцинация.*

THE RATIO OF COMPONENTS OF VIRUSES IN THE MANUFACTURE OF LABORATORY SAMPLES OF ASSOCIATED INACTIVATED VACCINES WITH THE USE OF THE VIRUS PROTEIN OF THE RS CATTLE**Krasochka P.P., Kalesnikovich K.V.**

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*Despite the successes achieved in the fight against viral respiratory diseases of cattle, this problem remains relevant. Vaccination is currently one of the main ways to improve the safety of animals. The selection of the appropriate adjuvant in the design of the vaccine is one of the key points that ensure successful vaccination. Adjuvants increase the immunogenicity of developed vaccines and reduce the consumption of antigens included in vaccines. **Keywords:** respiratory diseases, cattle, respiratory syncytial infection, vaccination.*

Введение. Инфекционные болезни телят являются одной из причин существенных экономических потерь в промышленном животноводстве [9, 13, 14].

Острые респираторные вирусные инфекции негативно влияют на полноценный рост и формирование организма теленка, способствуют индукции секундарной инфекции, проявляются нарушением физиологических этапов формирования морфофункциональной организации иммунной системы [1]. Они приводят к падежу или снижению скорости роста животных, затратам на лечение, диагностические и профилактические мероприятия [7].

Высокая концентрация животных на ограниченных площадках и поступающих из различных хозяйств-поставщиков создает условия, при которых легко реализуются воздушно-капельный и воздушно-пылевой пути передачи вирусов, патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, что неизбежно влечет за собой возрастание риска возникновения эпизоотических вспышек массовых респираторных болезней телят. На крупных специализированных фермах и промышленных животноводческих комплексах по откорму крупного рогатого скота, комплектуемых из большого числа хозяйств-поставщиков, чаще всего регистрируются смешанные респираторные инфекции. Особого внимания заслуживают ассоциированные вирусные и вирусно-бактериальные болезни крупного рогатого скота [11].

В этиологической структуре инфекционных заболеваний телят существенное значение играют возбудители инфекционного ринотрахеита (ИРТ), вирусной диареи (ВД), парагриппа-3 (ПГ-3), респираторно-синцитиальной инфекций (РСИ), рота- и коронавирусной инфекций [10]. Согласно исследованиям Красочко П.А. (2009), ИРТ встречается у 61-65 %, ВД – у 80-85 %, ротавирусная инфекция – у 75-80 %, коронавирусная инфекция – у 65-70 %, ПГ-3 – у 65-74 % обследованных животных [4]. Частота заражения РСИ крупного рогатого скота (КРС) в некоторых молочных стадах превышает 50 % [12].

Вакцинация – один из основных современных способов повышения сохранности животных [5]. В настоящее время создана целая линейка вакцин, в состав которых входят вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3, РСИ, рота- и коронавирусной инфекций КРС. Современная технология изготовления инактивированных вакцин включает в себя следующие этапы: подбор и накопление вакцинных штаммов, их инактивация, подбор иммуностимуляторов – адъювантов, оценка их качества [3]. Иммунизирующую способность инактивированных вакцин удастся повысить путем добавления адъювантов – веществ, стимулирующих иммунные реакции организма. Эффективность адъюванта в значительной степени зависит от природы вещества и его количества в составе вакцинного средства [2]. Подбор соответствующего адъюванта при конструировании вакцины является одним из ключевых моментов, обеспечивающих успешную вакцинацию [8].

Целью исследования явилась разработка оптимального соотношения компонентов вирусов при изготовлении лабораторных образцов ассоциированных инактивированных вакцин с применением белка вируса респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота (РСИ КРС), полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО ВГАВМ и на базе МТФ ОАО «Адаменки» Лиозненского района Витебской области.

Ранее проведенными исследованиями [6] было установлено, что цельные бактерии *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG в концентрации 1,5 млрд м.т./дозу в дозе 0,5 мл/гол., лизат бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG в концентрации 1,5 млрд м.т./дозу в дозе 0,5 мл/гол., очищенный рекомбинантный белок F1 в концентрации 30 мкг/дозу + 15 % адьювант ИЗА-15 обладают хорошими иммуногенными свойствами. Однако для последующей технологичности накопления белка и введения его в состав ассоциированных вакцин целесообразней использовать только цельные инактивированные бактерии *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG, так как части бактериальной клетки-вектора *E. coli* дополнительно обладают адьювантными свойствами, тем самым повышают иммуногенность разрабатываемых вакцин.

Для отработки оптимального соотношения компонентов в вакцинах на базе МТФ ОАО «Адаменки» Лиозненского района Витебской области были сформированы 6 подопытных и контрольная группа телят 1-2-месячного возраста по 5-10 голов. Группе 1 была введена вакцина «Большевик» (Белвитунифарм, Республика Беларусь) в дозе 3 мл/гол., группе 2 – экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 1,5 млрд м.т./дозу + инактивированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3, рота- и коронавирусной инфекций КРС, группе 3 – экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 3 млрд м.т./дозу + инактивированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3, рота- и коронавирусной инфекций КРС, группе 4 – вакцина «Пневмовир» (Белвитунифарм, Республика Беларусь) в дозе 3 мл/гол., группе 5 – экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 1,5 млрд м.т./дозу + инактивированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3 КРС, группе 6 – экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 3 млрд м.т./дозу + инактивированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3 КРС, 7 группа – интактный контроль.

Исследуемые образцы вводили внутримышечно в область бедра в объеме 3 мл два раза с промежутком 14 дней. Отбор проб крови осуществляли в 1, 21 и 60 дни опыта. Средний титр специфических антител телят, иммунизированных противовирусными вакцинами, определяли с помощью реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с эритроцитарными диагностикумами, содержащими вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3, РСИ, рота- и коронавирусной инфекций КРС. РНГА ставили в соответствии с методическими указаниями по применению набора жидких цветных эритроцитарных диагностикумов.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследований. Динамика уровня специфических антител телят, иммунизированных противовирусными вакцинами, представлена в таблице.

Таблица – Динамика уровня специфических антител в группах, иммунизированных лабораторными образцами вакцин

№ группы*	День отбора	Средний титр специфических антител в РНГА к антигену, log ₂					
		Вирус ИРТ	Вирус ВД	Вирус ПГ-3	Антиген РСИ	Вирус ротавирусной инфекции	Вирус коронавирусной инфекции
1	1	3±0,32	3,2±0,37	2,8±0,37	2,2±0,58	3±0,63	2,2±0,58
	21	4,83±0,31	4,5±0,43	4,67±0,42	4,33±0,33	4±0,37	4,67±0,33
	60	5,4±0,4	6±0,37	5,67±0,21	6,17±0,4	6,33±0,33	6±0,45
2	1	2,4±0,51	2,4±0,51	2±0,32	2,8±0,58	3±0,45	2,4±0,51
	21	4,83±0,48	4,67±0,49	4,67±0,56	4,67±0,21	4,33±0,33	4,67±0,42
	60	5,67±0,42	6±0,45	5,6±0,24	5,83±0,48	6,4±0,4	5,8±0,49
3	1	2,8±0,58	2,2±0,49	2,4±0,51	3±0,45	2,6±0,6	2,6±0,51
	21	4,67±0,33	4,67±0,42	4,5±0,43	4,5±0,22	4,17±0,4	4,83±0,31
	60	6±0,37	6±0,52	6,33±0,42	6,17±0,6	6,5±0,56	6±0,52
4	1	2,6±0,51	2,4±0,68	2,8±0,37	2,8±0,58	–	–
	21	5,17±0,31	4,83±0,4	5±0,37	4,83±0,17	–	–
	60	6,83±0,48	7±0,37	7±0,45	6,5±0,43	–	–
5	1	3,17±0,4	2,2±0,58	2,6±0,51	3,33±0,33	–	–
	21	5±0,26	5±0,37	5,17±0,31	5±0,26	–	–
	60	6,8±0,58	7±0,55	6,8±0,49	5,83±0,6	–	–
6	1	3±0,45	2,2±0,58	2,83±0,48	3,5±0,34	–	–
	21	4,83±0,48	4,8±0,2	5±0,32	5,2±0,2	–	–
	60	6,86±0,4	6,83±0,48	6,67±0,42	6,4±0,51	–	–

1	2	3	4	5	6	7	8
7	1	2,5±0,56	2,2±0,49	3,17±0,31	2,4±0,68	–	–
	21	2,8±0,58	2,33±0,42	3±0,26	2,8±0,58	–	–
	60	2,67±0,49	2,83±0,48	3,17±0,31	2,83±0,48	–	–

P<0,01

Примечания: группа 1 - вакцина «Большевак» (ОАО «БелВитунифарм», Республика Беларусь); группа 2 – экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 1,5 млрд м.т./дозу + инаktivированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3, рота- и коронавирусной инфекций КРС; группа 3 – экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 3 млрд м.т./дозу + инаktivированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3, рота- и коронавирусной инфекций КРС; группа 4 – вакцина «Пневмовир» (ОАО «БелВитунифарм», Республика Беларусь); группа 5 – экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 1,5 млрд м.т./дозу + инаktivированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3 КРС; группа 6 – экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 3 млрд м.т./дозу + инаktivированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3 КРС; группа 7 – интактный контроль.

Согласно данным таблицы, средний титр специфических антител телят после введения вирусов ИРТ, ВД, ПГ-3, РСИ в разных лабораторных образцах вакцин находится примерно на одинаковом уровне. Так, к 60 дню уровень антител к вирусу ИРТ КРС увеличивается – до 5,4-6,86 \log_2 , к вирусу ВД – до 5,6-7 \log_2 , к вирусу ПГ-3 – до 5,6-7 \log_2 , к вирусу РСИ – до 5,83-6,5, к вирусу ротавирусной инфекции – до 6,33-6,5 \log_2 , к вирусу коронавирусной инфекции – до 5,8-6 \log_2 .

При анализе динамики уровня специфических антител после введения компонента вируса РСИ КРС в виде цельных инаktivированных бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG прослеживается зависимость увеличения уровня специфических антител на большее количество антигена (рисунок).

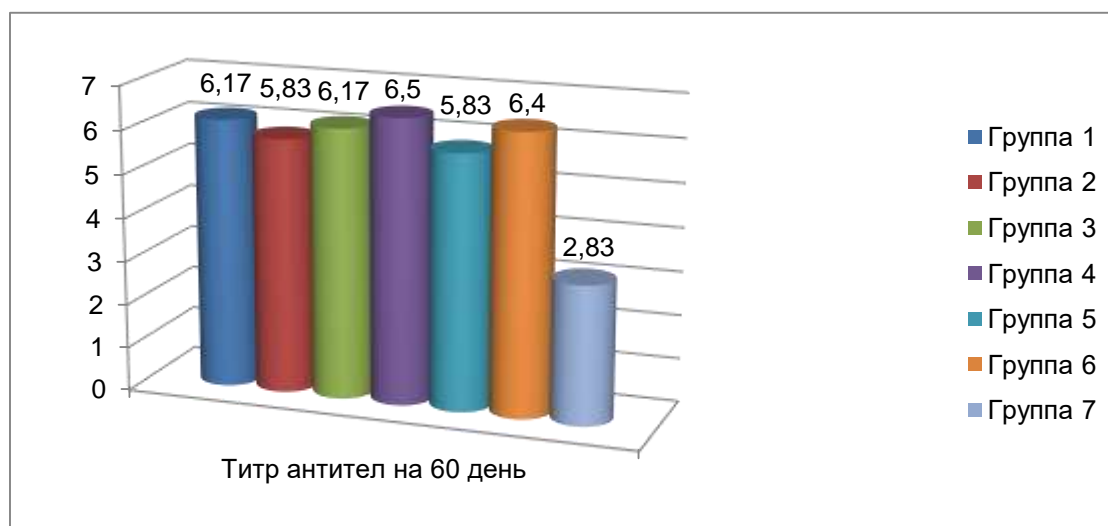


Рисунок – Результаты оценки иммунного ответа у животных на введение антигена РСИ

Так, в группах сходных вакцин и экспериментальных образцов (группы (1, 2, 3), (4, 5, 6)) отмечается разница в 0,34-0,73 \log_2 между образцом вакцины, содержащим белок вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 1,5 млрд м.т./дозу и 3 млрд м.т./дозу в пользу большего содержания белка.

Также данный эксперимент показал, что уровень специфических антител после введения белка вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 3 млрд м.т./дозу, по интенсивности иммунного ответа не уступает группам, содержащим культуральный вирус: в группе, иммунизированной вакциной «Большевак» (группа 1), титр антител составил 6,17±0,4 \log_2 , а в группе 3 (экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 3 млрд м.т./дозу + инаktivированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3, вирусы рота- и коронавирусной инфекций КРС) – 6,17±0,6 \log_2 ; в группе, иммунизированной вакциной «Пневмовир» (группа 4), титр антител составил 6,5±0,43 \log_2 , а в группе 6 (экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученного с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 3 млрд м.т./дозу + инаktivированные вирусы ИРТ, ВД, ПГ-3) – 6,4±0,51 \log_2 .

Заклучение. В результате обработки соотношения компонентов при изготовлении лабораторных образцов ассоциированных инактивированных вакцин установлено, что экспериментальный образец с белком вируса РСИ КРС, полученный с помощью рекомбинантной *E. coli* BRSV-F1 в концентрации 3 млрд м.т./дозу, является наиболее иммуногенным и позволяет получить иммунный ответ на уровне, соответствующем ответу от применения инактивированного культурального вируса.

Литература. 1. Алексеев, А. Д. Современные возможности иммуномодулирующей терапии в профилактике острых респираторных вирусных инфекций крупного рогатого скота / А. Д. Алексеев, Е. С. Одегов, О. Г. Петрова // *Аграрный вестник Урала*. – 2017. – № 3 (157). – С. 5-8. 2. Красочко, В. П. Результаты изучения адъювантных свойств хитозана при иммунизации против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота / В. П. Красочко ; рук. работы В. В. Максимович // *Исследования молодых ученых : материалы IX Международной научно-практической конференции молодых ученых «Рациональное природопользование» (г. Витебск, 27-28 мая 2010 г.) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины*. - Витебск : ВГАВМ, 2010. - С. 62-63. 3. Адъюванты при конструировании поливалентной вакцины против вирусных энтеритов молодняка крупного рогатого скота / П. А. Красочко [и др.] // *Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения И. В. Звягина, октябрь 2020 г. / Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности*. – Щелково, 2020. – С.137–143. 4. Красочко, П. А. Биотехнологические основы конструирования и использования иммунобиологических препаратов для молодняка крупного рогатого скота : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.23 / П. А. Красочко. – Щелково, 2009. – 439 с. 5. Красочко, П. А. Вакцинация против инфекционных болезней - основа сохранности крупного рогатого скота / П. А. Красочко, П. П. Красочко // *Наше сельское хозяйство*. – 2019. – № 18 (218). – С. 70-74. 6. Красочко, П. П. Анализ иммунного ответа у животных на введение рекомбинантного белка - антигена респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота / П. П. Красочко, К. В. Колесникович, И. А. Коротеева // *Современные достижения в решении актуальных проблем агропромышленного комплекса : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Института экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского (г. Минск, 15-16 сентября 2022 г.) / НАН Беларуси, Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского*. - Минск : Беларуская навука, 2022. - С. 138-141. 7. Машеро, В. А. Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь / В. А. Машеро, П. А. Красочко // *Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»*. - 2007. - Т. 43, № 2. - С. 83-86. 8. Опарина, И. В. Эффективность специфической профилактики кишечной патологии у телят в Республике Беларусь отечественными вакцинами / И. В. Опарина // *Исследования молодых ученых : материалы XI Международной конференции молодых ученых «Инновации в ветеринарной медицине, биологии, зоотехнии», г. Витебск, 24-25 мая 2012 г. / Витебская государственная академия ветеринарной медицины*. - Витебск : ВГАВМ, 2012. - С. 86-87. 9. Патологическая анатомия и дифференциальная диагностика инфекционных и инвазионных болезней телят и поросят, протекающих с респираторным синдромом : учеб.-метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1-74 03 02 «Ветеринарная медицина», биотехнологического факультета по специальности 1-74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза» и слушателей ФПК и ПК / В. С. Прудников [и др.]. - Витебск : ВГАВМ, 2019. - 40 с. 10. Диагностика, лечение, профилактика и меры борьбы с респираторными болезнями молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии : рекомендации / Н. В. Саница [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Кафедра эпизоотологии и инфекционных болезней. - Витебск : ВГАВМ, 2019. - 55 с. 11. Этиологическая структура респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота вирусной этиологии / А. К. Схатум [и др.] // *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2016. – № 3 (45), часть 3. – 44 с. 12. High mortality rate associated with bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infection in Belgian white blue calves previously vaccinated with an inactivated BRSV vaccine / P. Schreiber [et al.] // *J. Vet. Med., B. Infect. Dis. Vet. Public Health*. – 2000. – Vol. 47, № 7. – P. 535-550. 13. Эпизоотическая ситуация по инфекционным болезням телят первых дней жизни в Республике Беларусь / В. В. Максимович [и др.] // *Актуальные проблемы интензивного развития животноводства : сборник научных трудов / гл. редактор М. В. Шалак*. - Горки : БГСХА, 2019. - Вып. 22. - В 2 ч. - Ч. 2. - С. 195-201. 14. Разработка новых средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В. В. Максимович [и др.] // *Ученые записки учреждения образования Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины*. - 2004. - Т. 40, вып. 1. - С. 245-246.

Поступила в редакцию 03.02.2023.

УДК 616:619.3:615:636.2.053

ПРИМЕНЕНИЕ СОРБЕНТА «КОВЕЛОС-СОРБ» В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ТЕЛЯТ, БОЛЬНЫХ ДИСПЕПСИЕЙ

Курилович А.М., Логунов А.А., Богрова Е.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь