

ресурс] : материалы Междунар. науч.-практ. конф. студентов, магистрантов и молодых ученых, Витебск, Самарканд, 2 февр. 2021 г. / УО ВГАВМ ; СамИВМ ; редкол. : Н. И. Гавриченко (гл. ред.), Х. Б. Юнусов (гл. ред.) и др. – Витебск : ВГАВМ, 2021. – С. 268–271. – Режим доступа : <http://www.vsavm/by>. – Дата доступа: 17.05.2022.

7. Здоровое стадо – больше молока / Э. И. Веремей, В. М. Руколь, В. А. Журба, В. А. Комаровский, А. П. Волков, С. В. Лосик // Наше сельское хозяйство. Ветеринария и животноводство. – 2012. – № 11. – С. 24–28.

8. Распространение и этиология болезней пальцев у коров / В. А. Журба, И. А. Ковалев, Р. Н. Борисик, Р. В. Гоць // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 2 – 4 нояб. 2020 г. / УО ВГАВМ ; редкол. Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – С. 40–43.

9. Руколь, В. М. Диагностика и профилактика болезней конечностей у крупного рогатого скота : монография / В. М. Руколь, В. А. Журба. – Витебск : ВГАВМ, 2021. – 176 с.

УДК 615.322(043.3)+615.281.8(043.3)

АНАЛИЗ ИММУННОГО ОТВЕТА У ЖИВОТНЫХ НА ВВЕДЕНИЕ РЕКОМБИНАТНОГО БЕЛКА – АНТИГЕНА РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

П. П. Красочко, доктор биологических наук, доцент
К. В. Колесникович, магистр ветеринарных наук, аспирант
И. А. Коротева, магистрант

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

Резюме. Анализ иммунного ответа у животных на введение рекомбинантного белка – антигена респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота. Установлено, что иммунный ответ на введение цельных бактерий, лизат бактерий с адьювантом и рекомбинантного белка с адьювантом не уступает по антигенной активности вакцинам «Бовишилд» и «Хипрабовис», содержащих культуральный вирус. Следовательно, рекомбинантный белок – антиген РС-вируса может быть использован для включения его в вирус-вакцины для замены культурального вируса.

Ключевые слова: респираторно-синцитиальный вирус, крупный рогатый скот, рекомбинантный белок, вакцина, геном.

Summary. An analysis of the immune response in animals to the introduction of a recombinant protein – antigen of respiratory syncytial infection in cattle was carried out. It has been established that the immune response to the introduction of whole bacteria, bacterial lysate with adjuvant and recombinant protein with adjuvant is not inferior in antigenic activity to vaccines «Bovischild» and «Hiprabovis» containing culture virus. Therefore, a recombinant protein – an antigen of the RS virus can be used to include it in virus vaccines to replace the cultural virus.

Keywords: respiratory syncytial virus, cattle, recombinant protein, vaccine, genom.

Введение. В структуре заболеваний крупного рогатого скота инфекции молодняка вирусной этиологии занимают одно из ведущих мест. При традиционной технологии ведения скотоводства на долю этих болезней приходится 34,1–47 %, а при промышленной – свыше 60 % всех случаев заболевания молодняка. Согласно различным литературным источникам, этим заболеваниям подвержено до 82–100 % молодняка крупного рогатого скота до одного года, а часть их (9,6–17,2 %) переболевают неоднократно [7, 8].

При проведенных ранее исследованиях респираторно-синцитиальная инфекция была выявлена у 45–55 % коров [3].

Вакцинация в настоящее время – один из основных приемов повышения сохранности животных [1, 5]. Одним из наиболее важных и ответственных этапов при изготовлении вакцин является накопление вирусов. Однако не все вирусы накапливаются в высоких титрах в культуре клеток. Так, ряд вирусов может накапливаться до титра 7,5–8,5 lg ТЦД 50/мл, что достаточно для изготовления вакцин, то репродукция респираторно-синцитиального вируса невысокая и после культивирования их титр часто не достигает и 4,5 lg ТЦД 50/мл, что требует концентрирования вирусосодержащего материала для получения высокоактивной вакцины.

В этой связи для повышения накопления вирусов в последние годы используется генно-инженерные технологии [9]. Генно-инженерные (рекомбинантные) вакцины получают путем введения генов, кодирующих основные антигены патогенов вирусов, в геном микроорганизмов-реципиентов. В качестве реципиентов при создании рекомбинантных штаммов чаще всего используют кишечную палочку, дрожжевые клетки, вирусы осповакцины и вирусы насекомых. По сравнению с обычными вакцинами эти вакцины безопасны для введения, не реплицируются, просты в производстве, экономичны и не имеют вредного воздействия из-за нежелательных антигенных материалов [10].

Рекомбинантные субъединичные вакцины получают путем идентификации и отбора кодирующей области гена защитного антигена с последующим их клонированием в подходящем векторе и экспрессией в системе гетерологичного хозяина, такой как бактерии, дрожжи, млекопитающие и насекомые. *Escherichia coli* широко используется для экспрессии белка в качестве гетерологичного хозяина, помимо ограничения в форме выхода, посттрансляционной модификации и фолдинга экспрессируемых рекомбинантных белков.

В Институте микробиологии НАН Беларуси проведены исследования по созданию модели генетической конструкции, включающей в себя ген F1, кодирующий субъединицу фьюжн-белка респираторно-синцитиального вируса КРС, выделенный методом ПЦР и встроенный в вектор рЕТ42a(+). На основе полученного вектора создан новый штамм-продуцент рекомбинантной субъединицы фьюжн-белка, которая содержит на С-конце молекулы октогистидиновый олигопептид, упрощающий очистку до одной стадии. Новый генно-инженерный штамм *E. coli* F1 продуцирует субъединицу фьюжн-белка респираторно синцитиального вируса КРС, которую в дальнейшем можно использовать для изготовления вакцин против респираторной инфекции, вызываемой данным вирусом.

Цель исследований – изучение иммунного ответа у животных на введение рекомбинантного белка – антигена респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Исследования проводились в условиях кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО ВГАВМ, отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО ВГАВМ, виварии УО ВГАВМ.

Для изучения сравнительного иммунного ответа на введение животным рекомбинантного штамма микроорганизмов, синтезирующего белок-антиген РСВ КРС и культуральных вирусов был проведен эксперимент на морских свинках. Из животных были сформированы группы по 5 голов в группе: животным группы № 1 вводили компонент респираторно-синцитиального вируса вакцины Хипрабовис-4 (Хипра), № 2 – вирусный компонент вакцины Бовишилд Голд FP5 (Зоетис), № 3 – инактивированный РСВ КРС (ОАО «Белвитунифарм») + 15 % адьювант ИЗА15; № 4 – лизат бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG +15 % адьювант ИЗА 15; № 5 – очищенный рекомбинантный белок F РСВ КРС (30 мкг на дозу) + 15 % адьювант ИЗА15; № 6 – цельные бактерии *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG; № 7 – лизат бактерий *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG; № 8 – цельные бактерии *E. coli* BRSV-F1 с индуктором синтеза белка IPTG + 15 % адьювант ИЗА15; № 9 – очищенный рекомбинантный белок F РСВ КРС (30 мкг на дозу) + активированная целлюлоза (2 %); № 10 – контроль. Животным вводились композиции в количестве по 0,5 мл в область бедра двукратно с интервалом в 14 дней. Взятие крови осуществляли в начале опыта, перед второй иммунизацией и спустя 14 суток после повторной иммунизации.

Оценку иммунного ответа проводили путем постановки РНГА с эритроцитарными диагностикумом, содержащим антиген РС-вируса. РНГА ставили по общепринятой методике.

Результаты исследования. В табл. приведены результаты оценки иммунного ответа у животных на введение различных антигенов РС-вируса.

Результаты оценки иммунного ответа у животных на введение различных антигенов РС-вируса (\log_2)

№ п/п	Вид антигена	Титр антител в сыворотке крови КРС	
		1-е взятие	2-е взятие
1	Цельные бактерии	$5,8 \pm 1,07$	$5,2 \pm 0,58$
2	Цельные бактерии с ИЗА	$6,6 \pm 0,74$	$4,5 \pm 1,50$
3	Лизат	$7,0 \pm 0,00$	$4,0 \pm 0,57$
4	Лизат бактерий с ИЗА	$7,0 \pm 0,68$	$5,3 \pm 0,80$
5	Белок + ИЗА	$5,3 \pm 0,88$	$5,0 \pm 1,00$
6	Белок + целлюлоза	$5,2 \pm 1,07$	$4,4 \pm 0,81$
7	Инактивированный РС с ИЗА-15	$6,5 \pm 0,56$	$5,2 \pm 0,60$
8	Вакцина «Хипрабовис»	$6,0 \pm 0,84$	$5,6 \pm 0,67$
9	Вакцина Бовишилд	$5,0 \pm 0,45$	$5,0 \pm 0,77$
10	Контроль	$0,4 \pm 0,24$	$0,4 \pm 0,24$

Так, при введении морским свинкам цельных бактерий из рекомбинантного штамма микроорганизмов, синтезирующего белок-антиген РСВ КРС отмечено, что через 14 дней после его введения титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $5,8 \pm 1,07 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител несколько снизился до $5,2 \pm 0,58 \log_2$. При введении цельных бактерий с ИЗА через 14 дней после его введения титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $6,6 \pm 0,74 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител снизился до $4,5 \pm 1,50 \log_2$. Через 14 дней после введения лизата титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $7,0 \pm 0,00 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител снизился до $4,0 \pm 0,57 \log_2$. При введении лизат бактерий с ИЗА через 14 дней после его введения титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $7,0 \pm 0,68 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител снизился до $5,3 \pm 0,80 \log_2$. При введении белка + ИЗА через 14 дней после его введения титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $5,3 \pm 0,88 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител снизился до $5,0 \pm 1,00 \log_2$. При введении белка + целлюлоза через 14 дней после его введения титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $5,2 \pm 1,07 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител снизился до $4,4 \pm 0,81 \log_2$. При введении инактивированного РС и ИЗА15 через 14 дней после его введения титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $6,5 \pm 0,56 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител снизился до $5,2 \pm 0,60 \log_2$. При введении вакцины «Хипрабовис» через 14 дней после его введения титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $6,0 \pm 0,84 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител снизился до $5,6 \pm 0,67 \log_2$. При введении вакцины «Бовишилд» через 14 дней после его введения титр антител возрос с $0,4 \pm 0,24$ до $5,0 \pm 0,45 \log_2$, а через 14 дней после второй иммунизации титр антител снизился до $5,0 \pm 0,77 \log_2$.

Согласно данным таблицы, можно сделать вывод, что иммунный ответ на введение цельных бактерий, лизат бактерий с адьювантом и рекомбинантного белка с адьювантом не уступает по антигенной активности вакцинам «Бовишилд» и «Хипрабовис», содержащих культуральный вирус. Следовательно, рекомбинантный белок – антиген РС-вируса может быть использован для включения его в вирус-вакцины для замены культурального вируса.

Закключение. Проведенные исследования показали, что рекомбинантный антиген РС-вируса может быть использован для включения его в вирус-вакцины для замены культурального вируса.

Список использованных источников

1. Бурова, О. А. Системный подход к разработке методов профилактики желудочно-кишечных болезней новорожденных телят / О. А. Бурова, А. А. Блохин // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. – 2017. – № 2 (57). – С. 46–50.
2. Вирусные и ассоциативные вирусно-бактериальные респираторные болезни крупного рогатого скота (особенности эпизоотологии, патогенеза, клинического проявления, патологоанатомических изменений) / А. Г. Глотов [и др.] // *Ветеринарный консультант*. – 2005. – № 9. – С. 5–14.
3. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: бактериальные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.]. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 701 с.
4. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: вирусные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] ; Кубан. гос. аграр. ун-т им. И. Т. Трубилина, Всерос. науч.-исслед. и технол. ин-т биолог. промышленности, Витеб. гос. акад. вет. медицины. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – 484 с.
5. Машеро, В. А. Этиологическая структура возбудителей респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят в Республике Беларусь / В. А. Машеро, П. А. Красочко // *Ученые записки УО ВГАВМ*. – 2007. – Т. 43. – № 2. – С. 83–86.
6. Отбор образцов для лабораторной диагностики бактериальных и вирусных болезней животных : учеб.-метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1 – 74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарных специальностям / И. Н. Громов [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 64 с.
7. Роль микрофлоры в возникновении заболеваний у животных и птиц / П. А. Красочко, В. М. Голушко, Е. А. Капитонова // *Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства : тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф ; Науч.-практ. центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству*. – 2008. – С. 292–294.
8. Схатум, А. К. Этиологическая структура респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота вирусной этиологии / А. К. Схатум, В. И. Терехов, Н. Ю. Басова [и др.] // *Междунар. науч.-исслед. журн*. – 2016. – № 3 (45), ч. 3. – 44 с.
9. Gay, C. G. Genomics and vaccine development / C. G. Gay // *Rev. Sci. Tech*. – 2007. – Vol. 26, № 1. – P. 49–67.
10. Van Kampen, K. R. Recombinant vaccine technology in veterinary medicine / K. R. Van Kampen // *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract*. – 2001. – Vol. 31, № 3. – P. 5–8.

УДК 619:616.36

НЕЛИНЕЙНОЕ НАКОПЛЕНИЕ α -SMA+ КЛЕТОК В ХОДЕ ИНДУЦИРОВАННОГО ФИБРОГЕНЕЗА ПЕЧЕНИ

Е. И. Лебедева, кандидат биологических наук, доцент¹

А. Т. Щастный, доктор медицинских наук, профессор¹

П. А. Красочко, доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор²

А. С. Бабенко, кандидат химических наук, доцент³

¹*Витебский ордена Дружбы народов государственный медицинский университет, г. Витебск*

²*Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины, г. Витебск, Республика Беларусь*

³*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь*

Резюме. Цель исследования состояла в количественной оценке α -SMA+ клеток на разных стадиях экспериментального фиброза печени у крыс Wistar.

В течении 17 недель у крыс-самцов Wistar свежеприготовленным раствором тиацетамида индуцировали фиброгенез с трансформацией в цирроз. Морфологическое исследование печени проводили на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, методом Маллори и моноклональным мышным антителом α -SMA.

В ходе инициации и развития фиброза печени, индуцированного химическим веществом, рост числа звездчатых клеток с фенотипом α -SMA+ происходил нелинейно. Отмечались более активные фазы их