

**РЕКОМБИНАНТНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРОИЗВОДСТВЕ
ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ
ЖИВОТНЫХ**

***П. А. Красочко**, д-р вет. наук, д-р биол. наук, профессор

***П. П. Красочко**, д-р биол. наук, доцент

****В. А. Прокулевич**, д-р биол. наук, профессор

*****А. И. Зиченко**, д-р биол. наук, профессор,
член-корреспондент НАН Беларуси

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

****Белорусский государственный университет**,
Минск, Республика Беларусь

*****ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси»**,
Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Приведены сведения об использовании рекомбинантных технологий в ветеринарной медицине. Показано, что в последние годы для конструирования поливалентных вакцин и иммунотерапии используются штаммы бактерий, в генетический аппарат которых включены плазмиды с геном вирусов инфекционного ринотрахеита, диареи, респираторно-синцитиального вируса. Сконструированы и проходят испытания 3 поливалентные вакцины с рекомбинантным штаммом кишечной палочки, содержащей белок F1 респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота. Разработана технология и налажен выпуск видоспецифичных рекомбинантных α - и γ -интерферонов для лечения вирусных инфекций у крупного рогатого скота, свиней, овец, лошадей, птиц.

В структуре заболеваний крупного рогатого скота инфекции молодняка вирусной этиологии занимают одно из ведущих мест. В современных условиях ведения скотоводства эти инфекции являются основной причиной потери телят послеотъемного возраста. При традиционной технологии ведения скотоводства на долю этих болезней приходится 34,1–47 %, а при промышленной – свыше 60 % всех случаев заболевания молодняка. В этиологической структуре инфекционных заболеваний телят существенное значение играют возбудители таких болезней, как инфекционный ринотрахеит, вирусная

диарея, парагрипп-3, респираторно-синцитиальная, рота- и коронавирусная инфекции. При заболевании телят вышеуказанными инфекциями народному хозяйству наносится значительный экономический ущерб, который складывается из затрат на лечение, снижения продуктивности переболевшего молодняка и падежа телят.

Наиболее эффективным направлением для профилактики инфекционных болезней, особенно у молодняка, является вакцинация [1–5].

В настоящее время создана целая линейка вакцин, в состав которых входят вирусы инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальный, рота- и коронавирусы крупного рогатого скота. Эти вакцины предназначены для профилактики вирусных пневмоэнтеритов молодняка крупного рогатого скота.

Классическая технология изготовления противовирусных вакцин состоит из следующих этапов: накопление вирусов – монокомпонентов вакцины на культуре клеток; определение инфекционной и антигенной активности каждого из вирусов; инаktivация вирусов; составление вакцины; внесение адьюванта; фасовка, этикетировка и контроль.

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, если вирусы инфекционного ринотрахеита, диареи и ротавирусы могут накапливаться до титра 7,5–8,5 lg ТЦД 50/мл, что достаточно для изготовления вакцин, то репродукция таких вирусов, как вирус парагриппа-3, респираторно-синцитиальный и коронавирус, не всегда высокая 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 используются генно-инженерные технологии. Их применяют как для получения рекомбинантных антигенов, так и для получения рекомбинантных вакцин. 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.

Создание подобных вакцин началось в 70-е гг. прошлого века. Ярким представителем генно-инженерной или рекомбинантной вакцины является антирабическая рекомбинантная вирус-вакцина для пероральной иммунизации диких плотоядных животных Raboral, разрабо-

танная французскими учеными. В качестве вектора-носителя для внедрения чужеродного гена был выбран вирус оспы коров (штамм Копенгаген), в который внебрили копию ДНК, кодирующую гликопротеин вирусной оболочки (gpG) вируса бешенства ERA. В результате была получена антирабическая живая рекомбинантная вакцина с названием VRG (The vaccinia – rabies glycoprotein). Титр вируса составлял 10^8 БОЕ на дозу.

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.

Escherichia coli широко используется для экспрессии белка в качестве гетерологичного хозяина, помимо ограничения в форме выхода, посттрансляционной модификации и фолдинга экспрессируемых рекомбинантных белков. Примеры их включают субъединичную вакцину против вируса ньюкаслской болезни (NDV) с использованием гена гемагглютинин-нейраминидазы (HN), субъединичную вакцину против вируса ящура с использованием гена VP-1, субъединичную вакцину против цирковируса свиней типа 2 (PCV-2) на основе открытой рамки считывания (коммерциализирована) и субъединичную вакцину против японского энцефалита на основе белка оболочки ргМ и Е.

В последние годы проведены исследования и установлен феномен спонтанной персистенции генома инфекционных вирусов в бактериальных клетках, что является одним из направлений обеспечения биологической промышленности штаммами бактерий, синтезирующими белки вирусов. Для реализации данного направления проведен скрининг бактерий по выявлению в их геноме спонтанно персистирующих генов вирусов. Так, в *Bacillus licheniformis* установлено наличие гена вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, кодирующего биосинтез белков gB и gE вируса, ответственных за создание противовирусного иммунитета. На основании этого штамма разработан препарат для иммунотерапии инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

Для повышения профилактической эффективности вакцин и снижения их себестоимости перспективным является конструирование рекомбинантных штаммов бактерий, синтезирующих белки респираторно-синцитиального вируса и диареи крупного рогатого скота для включения в состав поливалентных противовирусных вакцин. Это позволит достичь высокого уровня накопления рекомбинантных белков вышеуказанных вирусов крупного рогатого скота в микробных клетках, превышающего в 50–100 раз их накопление в культуре клеток; уде-

шевление себестоимости изготовления монокомпонентов вирусов при изготовлении противовирусных вакцин за счет его накопления реакторным способом.

При современном ведении животноводства имеет место высокий уровень заболеваемости животных вирусными инфекциями. Традиционно применяемые антибиотики для лечения данной группы заболеваний слабо эффективны, так как не воздействуют на вирусы, при этом указанные препараты уничтожают как патогенную, так и нормофлору кишечника, что ведет к дисбактериозам.

Поэтому одним из перспективных направлений терапии вирусных инфекций животных является конструирование противовирусных препаратов – интерферонов. В Белорусском государственном университете проведено конструирование линейки рекомбинантных видоспецифичных α - и γ -интерферонов для лечения вирусных инфекций у крупного рогатого скота, свиней, лошадей, собак, овец и птиц. В основе сконструированных штаммов-продуцентов *E. coli* лежит внесение плазмиды с генами бычьего, собачьего, птичьего, овечьего α - и γ -интерферона в бактерию по методике, разработанной В. А. Прокулевичем и М. И. Потаповичем.

В Белорусском государственном университете проводятся исследования по созданию рекомбинантного штамма-продуцента синтетического полиэпитопного белка, а также разработки технологий культивирования, рефолдинга и очистки действующих веществ, что в итоге должно привести к получению очищенных субстанций; подобрать дополнительные противовирусные иммуномодулирующие ингредиенты препарата и создать высокоэффективный лечебно-профилактический видоспецифический ветеринарный препарат для борьбы с различными формами вируса диареи КРС.

В ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» проведены исследования по конструированию рекомбинантного штамма *Escherichia coli* – продуцента белка F1 респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота путем создания новой плазмиды, несущей ген F1, кодирующий белок F1 вируса.

Полученные рекомбинантные штаммы бактерий с геном вирусов начали использоваться для конструирования и изготовления поливалентных вакцин и препаратов для иммунотерапии вирусных инфекций – вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита. Налажен промышленный выпуск рекомбинантных α - и γ -интерферонов для специфической профилактики и терапии вирусных инфекций у крупного рогатого скота, свиней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красочко, П. П. Молекулярно-генетические, иммунологические и физические основы борьбы с инфекционным ринотрахеитом крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.01.06 / П. П. Красочко; Всеросс. науч.-иссл. и технол. ин-т. биол. пром-сти. – Щелково, 2018. – 46 с.
2. Красочко, П. А. Интерферон и его использование в ветеринарной медицине / П. А. Красочко, В. А. Прокулевич, И. В. Чуенко // Наше сельское хозяйство. – 2012. – № 19. – С. 62–66.
3. Методические рекомендации по использованию рекомбинантного интерферона и препаратов на его основе в ветеринарной медицине / П. А. Красочко [и др.]. – Минск: РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского, 2013. – 30 с.
4. Современные подходы к конструированию вакцин для профилактики вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекций телят / П. А. Красочко [и др.] // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2022. – № 2 (17). – С. 33–38.
5. Красочко, П. А. Спонтанная персистенция генома инфекционных вирусов в бактериальных клетках, приводящая к биосинтезу вирусспецифических белков / П. А. Красочко, А. П. Лысенко, Е. В. Волосянко // Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария. – 2004. – № 2. – С. 34–40.

УДК 619:616.98:579.842.11:636.2(476)

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНЫ РОТАКОР-К ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЯХ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

***Я. П. Яромчик**, канд. вет. наук, доцент

***Н. В. Сеница**, канд. вет. наук, доцент

****С. А. Громада**

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

****ОАО «БелВитунифарм»,
г. п. Должа, Витебский район, Республика Беларусь**

Аннотация. По результатам проведенных исследований авторами установлено, что применение ассоциированной вакцины против колибактериоза, рота- и коронавирусной инфекций телят Ротакор-К позволяет снизить заболеваемость у новорожденных телят на 6,7–15,8 % и повысить их сохранность на 8,2–29,4 % по сравнению с зарубежными аналогами.

В странах, в которых развито молочное и мясное скотоводство за счет интенсификации с применением современных технологий содержания, сталкиваются с проблемой возникновения и распространения