

АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЕ У МОРСКИХ СВИНОК ПОСЛЕ ИММУНИЗАЦИИ РЕКОМБИНАНТНЫМИ ШТАММАМИ ЭШЕРИХИЙ, СОДЕРЖАЩИМИ ГЕННЫЕ КОНСТРУКЦИИ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ ВИРУСА ВИВУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Красочко П.А., д.в.н., д.б.н., профессор УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Гецевич Д.О. – магистр в.н., аспирант УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Крюкова К.А. - магистрант УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

***Аннотация.** В статье приведен материал по изучению иммуногенных свойств рекомбинантных штаммов эшерихий содержащих генные конструкции экспрессии белков вируса диареи крупного рогатого скота на морских свинках. Установлено, что по истечению срока наблюдений в течение 40 суток у морских свинок опытных групп образовались антитела против возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота, т.е. препарат обладает иммуногенными свойствами.*

***Ключевые слова:** вирус диареи, рекомбинантный штамм, эшерихии, экспрессия, генные конструкции.*

Введение. Особое значение среди возбудителей вирусных пневмоэнтеритов телят занимает вирус диареи-болезни слизистых оболочек. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота (ВД-БС КРС) имеет широкое распространение во многих странах мира и считается одним из заболеваний, имеющих экономическое значение для современного животноводства [6, 7, 8].

Экономический ущерб сельскохозяйственных предприятий вирусной диареи вследствие аборт и мертворождений, рождения слабого, нежизнеспособных молодняка, падежа и вынужденного убоя телят, потери упитанности, снижения молочной продуктивности, сокращение жизни продуктивных животных составляют десятки миллионов рублей [4].

В современных условиях введения интенсивного животноводства для снижения напряженности эпизоотической ситуации по вирусной диарее крупного рогатого скота и уменьшения экономического ущерба является создание комплексной системы защиты поголовья от данной инфекции [1, 5, 10].

Несмотря на значительные достижения ветеринарной науки и практики, до настоящего времени не разработаны эффективные схемы лечения данной патологии ввиду отсутствия эффективных специфических противовирусных

ветеринарных препаратов. Этот факт обуславливает актуальность разработки средств борьбы с данным патогеном.

Для специфической профилактики вирусной диареи разработаны и широко используются живые и инактивированные моно- и ассоциированные вакцины. Но данные биопрепараты создают поствакцинальный иммунитет, но лечебными свойствами не обладают.

Лечебным эффектом обладают гипериммунные сыворотки, содержание в своем составе противовирусные антитела. Такие биопрепараты применяют как для пассивной профилактики, так и для терапии животных, больных вирусной диареей.

Для неспецифической профилактики и терапии животных с вирусной диареей широко используются препараты на основе интерферонов, серебра, пробиотиков, фитопрепаратов и т.д.

В последние годы начали разрабатывать генно-инженерные (рекомбинантные) конструкции, которые 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.

Новым перспективным направлением иммунотерапии вирусной диареи является использование рекомбинантных штаммов бактерий, имеющих в своем составе генные конструкции экспрессии белков вирусов. Данные рекомбинантные бактерии при введении их животным должны проявлять высокую специфическую активность против группы латентных персистирующих форм вируса диареи, активизируя клоны иммунокомпетентных клеток и тем самым активизировать клеточный иммунитет. При этом совмещение двух функциональных видоспецифических для крупного рогатого скота «защитных» рекомбинантных белков с синтезированным по схеме вирус-аналогового капсидного полиэпитопного пептида в одной бактерии, которые будут обладать высоким синергическим действием против вирусной диареи, находящихся как в активном, так и в латентном состоянии.

На кафедре микробиологии Белорусского государственного университета и кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» разработан иммунотерапевтический ветеринарный препарат «Антипестивир» на основе рекомбинантного штамма *E. coli*, несущего в своем составе генные конструкции экспрессии белков вируса диареи и рекомбинантного интерферона.

Целью исследований явилось изучение иммуногенности рекомбинантного штамма *E. coli*, несущего в своем составе генные конструкции экспрессии белков вируса диареи.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на базе кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Изучение иммуногенности у морских свинок после иммунизации рекомбинантными

штаммами *E. coli*, содержащими генные конструкции экспрессии белков вируса вирусной диареи крупного рогатого скота проводили по ГОСТ 31926-2013 [3].

Иммуногенность рекомбинантного штамма определяли на 15 здоровых морских свинок обоего пола, живой массой 800-900г, разделенных на 3 группы по 5 животных в каждой. Морским свинкам 1 группы подкожно в область внутренней поверхности бедра после предварительной дезинфекции спиртовым тампоном вводили изучаемый рекомбинантный штамм *E. coli*, продуцируемый белки вируса диареи 1 подгруппы, в объеме 1,0 см³. Морским свинкам 2 группы вводили подкожно в область внутренней поверхности бедра после предварительной дезинфекции спиртовым тампоном вводили изучаемый рекомбинантный штамм *E. coli*, продуцируемый белки вируса диареи 2 подгруппы, в объеме 1,0 см³. Морские свинки 3 группы – контроль.

Штаммы вводили морским свинкам 1 раз в неделю 3 недели подряд. Взятие крови проводили через 2 недели после последней иммунизации.

За морскими свинками опытной и контрольной групп вели клиническое наблюдение в течение 40 суток.

В сыворотках крови морских свинок определяли титр анти тел к вирусу диареи в РНГА.

Результаты исследований. По результатам исследований было установлено, что рекомбинантные штаммы *E. coli*, продуцируемый белки вируса диареи 1 и 2 подгруппы вируса диареи обладает иммуногенной активностью. При ежедневном визуальном наблюдении каких-либо изменений в поведении, приеме корма и воды, внешнего вида зафиксировано не было. Все белые мыши выжили, внешне выглядели здоровыми: шерсть была чистой, не испачканная экскрементами, они охотно принимали корм и воду, активно двигались и адекватно реагировали на внешние раздражители.

По окончании испытания, была отобрана кровь у морских свинок. С сывороткой крови проведена постановка РНГА для определения титра антител к вирусу диареи у подопытных животных. Полученные данные отображены в таблице 1.

В табл. 1 приведены результаты определения титра антител к вирусу диареи у морских свинок.

Таблица 1 – Результаты определения титра антител к вирусу диареи у морских свинок после иммунизации рекомбинантными штаммами кишечной палочки (\log_2)

№	1 группа	2 группа	Контроль
1	7	5	4
2	6	4	3
3	6	6	2
4	7	5	4
5	7	6	3
M \pm m	6,6 \pm 0,24	5,2 \pm ,37	3,2 \pm 0,37

В результате проведенных исследований установлено, что рекомбинантные штаммы *E. coli* (1 и 2 подгруппы) несущие в своем составе генные конструкции экспрессии белков вируса диареи обладает иммуногенностью. Титр антител у морских свинок 1 группы к штамму вируса диареи 1 подгруппы составил $6,6 \log_2$, титр антител у морских свинок к штамму вируса диареи 2 подгруппы составил $5,2 \log_2$, а в контроле $3,2 \log_2$.

Список литературы:

1. Влияние специфической профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота на сохранность молодняка / А.П. Порываева [и др.] // Ветеринарный врач. 2018. №3. С.24–27.

2. ГОСТ 28085-2013. Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Методы бактериологического контроля стерильности : межгосударственный стандарт Российской Федерации : издание официальное : принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 марта 2013 г. № 55-П) : введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 июня 2013 г. № 319-ст : введен взамен ГОСТ 28085-89 : дата введения 2014-07-01 / разработан Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ») // Техэксперт : офиц. сайт. – [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200104835> (дата обращения: 06.02.2024).

3. Диагностика, лечение, профилактика и меры борьбы с желудочно-кишечными болезнями молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии : рекомендации / Н. В. Сеница [и др.] ; Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины", 2019. 67 с. – EDN IVMOPL.

4. Инфекционные болезни животных, регистрируемые в Союзном государстве / П.А. Красочко [и др.] ; Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина, Чеченский государственный университет, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Краснодар : Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2020. 385 с. – ISBN 978-5-907373-70-9. – EDN NVEVJY.

5. Красочко П.А., Красочко П.П. Профилактика инфекционных болезней животных - приоритет биологической безопасности Союзного государства // Научные достижения Республики Беларусь : сборник материалов Дней белорусской науки в г. Москве. – Минск : Государственное учреждение "Белорусский институт системного анализа и информационного обеспечения научно-технической сферы", 2017. С. 161-163. – EDN ZDPVTL.

6. Красочко П.А., Красочко И.А., Борознов С.Л. Современные подходы к специфической профилактике вирусных респираторных и желудочно-кишечных

инфекций крупного рогатого скота / П. А. Красочко, // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. 2008. Т. 6. С. 243-251. – EDN MOUHVZ.

9. Методические рекомендации по профилактике, лечению и мерам борьбы с пневмоэнтеритами телят / П.А. Красочко [и др.] ; Белорусский НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Минск : Энциклопедикс, 2000. 40 с. – ISBN 985-6599-07-5. – EDN ZEFAPZ.

10. Поиск новых препаратов, эффективных в отношении возбудителя вирусной диареи - болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота / Т.И. Глотова [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2016. №12. С. 11

11. Лысенкова Д.А., Савинова К.Ю., Бычкова Т.К. Актуальные исследования в области ветеринарной медицины с использованием лабораторных животных. В сборнике: Роль аграрной науки в устойчивом развитии АПК. материалы II Международной научно-практической конференции. Курск, 2022. С. 246-250.