

ОЦЕНКА БЕЗВРЕДНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «АНТИПЕСТИВИР»

К. А. Крюкова, Д. О. Гецевич, П. А. Красочко

Цель исследований - изучение безвредности иммунотерапевтического ветеринарного препарата «Антипестивир». В статье приведен материал изучения безвредности иммунотерапевтического ветеринарного препарата «Антипестивир», основанного на использовании рекомбинантных штаммов эшерихий, содержащих генные конструкции экспрессии белков вируса диареи крупного рогатого скота. Установлено, что по истечению срока наблюдений в течение 14 суток гибели и изменений в клиническом состоянии животных не наблюдалось, т.е. препарат не токсичный и безвредный.

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

ASSESSMENT OF HARMLESSNESS OF COMPLEX IMMUNOTHERAPEUTIC VETERINARY DRUG "ANTIPESTIVIR"

K. A. Kryukova., D. O. Getsevich, P. A. Krasochko

The purpose of the research is to study the harmlessness of the immunotherapeutic veterinary drug Antipestivir. The purpose of the research is to study the antiviral activity of an aqueous suspension of the shiitake fungus. The article presents the material of studying the harmlessness of immunotherapeutic veterinary preparation "Antipestivir" based on the use of recombinant strains of Escherichia coli containing gene constructs of protein expression of bovine diarrhea virus. It was found that after 14 days of observation no deaths and changes in the clinical condition of animals were observed, i.e. the drug is non-toxic and harmless.

Keywords: *diarrhea virus, recombinant strain, Escherichia coli, expression, gene constructs.*

Введение. Развитие промышленного животноводства в странах СНГ обострило проблему респираторно-кишечной патологии, особенно у молодняка крупного рогатого скота. Ежегодно по этой причине гибнут до 40% телят в возрасте от одного до шести месяцев. Одним из факторов больших экономических потерь в животноводстве является широкое распространение вируса вирусной диареи крупного рогатого скота (ВД КРС). Экономический ущерб складывается из снижения удоя у коров, потери продуктивности, гибели новорожденного молодняка, рождения нежизнеспособного потомства, развития различных форм пневмоний,

нарушения функции воспроизводства животных, а также из значительных расходов на проведение лечебных, профилактических, карантинных и ликвидационных мероприятий. Также вирус вирусной диареи является сильнейшим иммуносупрессором [1, с. 64].

Согласно исследованиям, процент обнаружения антигена вирусной диареи из фекальных образцов, отобранных от больных телят с признаками диареи, составляет от 25 до 64%, что указывает на его значительную роль в возникновении инфекционных энтеритов [2, с. 40]. Кроме того, вирус диареи является одной из причин возникновения заболеваний репродуктивных органов у коров. Так, у больных эндометритом у коров антитела к вирусу диареи выявляются практически у 100% обследованных животных, при этом их титр достигает $7-8 \log_2$, тогда как у здоровых животных антитела выявляются у 40-50% животных, а титр антител на $2-4 \log_2$ ниже [3, с. 22].

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, с. 385].

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 [5, с. 24; 6, с. 161; 7, с. 244; 8, с. 26; 9, с. 69].

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 инаktivированные 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 [10, с. 41; 11 с. 127].

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 полиэпитного пептида в одной бактерии, которые будут обладать высоким синергическим действием против вирусной диареи, находящихся как в активном, так и в латентном состоянии [12, с. 22].

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 эшерихий, несущего в своем составе генные конструкции экспрессии белков вируса диареи и рекомбинантного интерферона.

Целью исследований явилось изучение безвредности иммунотерапевтического ветеринарного препарата «Антипестивир».

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на базе кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Изучение реактогенности, безвредности и токсичности иммунотерапевтического ветеринарного препарата «Антипестивир» проводили по ГОСТ 31926-2013 [13].

Его реактогенность определяли на 10 здоровых белых мышах обоего пола, живой массой 18-20 г, разделенных на 2 группы по 5 животных в каждой. Мышам 1 группы однократно подкожно в область спины после предварительной дезинфекции спиртовым тампоном вводили изучаемый препарат в объеме 0,2 см³; животным 2 группы (контрольная) вводили изотонический раствор натрия хлорида в тех же дозах. За мышами опытной и контрольной групп вели клиническое наблюдение в течение 7 суток.

Далее проводили испытания иммунотерапевтического ветеринарного препарата «Антипестивир» на токсичность на 70 лабораторных животных (белые мыши) живой массой 19-22 г обоего пола, которых по принципу аналогов разделили на 7 групп по 10 голов в каждой.

Животным 1 опытной группы вводили иммунотерапевтический ветеринарный препарат «Антипестивир» однократно подкожно, обработав место введения спиртовой салфеткой, в объеме 0,1 см³ в область поверхности спины; животным 2 группы – 0,3 см³; 3 группы – 0,5 см³; 4 группы – 0,7 см³, 5 группы – 0,9 см³ и 6 группы – 1,0 см³. Мышам 7 группы препарат не вводили, они служили биологическим контролем. За всеми животными вели клиническое наблюдение в течение 14 суток.

Результаты исследований. По результатам исследований было установлено, что иммунотерапевтический ветеринарный препарат «Антипестивир» не обладает реактогенной 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. Следующим этапом оценки токсикологических свойств различных доз рекомбинантного штамма эшерихий, несущего в своем составе генные конструкции экспрессии белков вируса диареи.

Таблица 2. Результаты изучения токсикологических свойств различных доз иммунотерапевтического ветеринарного препарата «Антипестивир».

[illegible]

	Реакция	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Контр оль	Сохранн ость	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0	10/ 0
	Реакция	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: сохранность - кол-во выживших / павших

Реакция- реакция на месте инъекции

Результаты проведенных опытов по определению токсичности иммунотерапевтического ветеринарного препарата «Антипестивир» показали, что по истечению срока наблюдений в течение 14 суток гибели и изменений в клиническом состоянии не наблюдалось, следовательно, предлагаемый штамм не токсичный и безвредный.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, иммунотерапевтический ветеринарный препарат «Антипестивир» является нереагтогенным, не обладает токсичностью и абсолютно безвреден.

Цитированная литература:

1. **Синица, Н. В.** Диагностика, лечение, профилактика и меры борьбы с желудочно-кишечными болезнями молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии: рекомендации / Н. В. Синица, П. А. Красочко, Н. И. Гавриченко и др. – Текст : непосредственный // Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ", 2019. – С. 67. – EDN IVMOPL.
2. **Красочко, П. А.** Методические рекомендации по профилактике, лечению и мерам борьбы с пневмоэнтеритами телят / П. А. Красочко, Н. В. Савицкий, Ю. Г. Зелютков и др. – Текст : непосредственный // Белорусский НИИ экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Минск: Энциклопедикс, 2000. – С. 40. – ISBN 985-6599-07-5. – EDN ZEFAPZ.
3. **Гайсенок, С. Л.** Эпизоотическая ситуация по вирусной диарее крупного рогатого скота в Республике Беларусь / С. Л. Гайсенок и др. – Текст : непосредственный // Ветеринарный журнал Беларуси. - 2019. – №1. – С. 22-26.
4. **Красочко, П. А.** Инфекционные болезни животных, регистрируемые в Союзном государстве / П. А. Красочко, Н. И. Гавриченко, О. Ю. Черных и др. – Текст : непосредственный // 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. – С. 385. – ISBN 978-5-907373-70-9. – EDN NVEVJY.
5. **Порываева, А.П.** Влияние специфической профилактики вирусной диареи крупного рогатого скота на сохранность молодняка / А.П. Порываева [и др.] – Текст : непосредственный // Ветеринарный врач. – 2018. – №3. – С.24–27.
6. **Красочко, П. А.** Профилактика инфекционных болезней животных - приоритет биологической безопасности Союзного государства / П. А. Красочко, П. П.

Красочко – Текст : непосредственный // 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.

7. **Красочко, П. А.** Иммунодефицит и его коррекция при инфекционном ринотрахеите и вирусной диарее у телят / П. А. Красочко, И. А. Красочко, С. М. Усов – Текст : непосредственный // Ветеринарная наука - производству. – 1999. – № 34. – С. 40-50. – EDN OHPLXX.

8. **Красочко, П. А.** Серологический мониторинг вирусных пневмоэнтеритов крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь / П. А. Красочко, М. А. Понаськов, П. П. Красочко – Текст : непосредственный // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – Витебск, 2022. – Т.58, вып. 1. – С. 26–30.

9. **Глотова, Т. И.** Поиск новых препаратов, эффективных в отношении возбудителя вирусной диареи - болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота / Т. И. Глотова и др. – Текст : непосредственный // Вестник КрасГАУ. – 2016. – №12. – С. 69–75.

10. **Красочко, П. А.** Иммунодефицит и его коррекция при инфекционном ринотрахеите и вирусной диарее у телят / П. А. Красочко, И. А. Красочко, С. М. Усов – Текст : непосредственный // Ветеринарная наука - производству. – 1999. – № 34. – С. 40-50. – EDN OHPLXX.

11. **Красочко, П. А.** Эффективность комплексного пробиотического препарата на телятах / П. А. Красочко и др. – Текст : непосредственный // Наука, образование, культура: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 27 годовщине Комратского государственного университета. – Комрат, 2018. – С. 127–129.

12. **Красочко, П. А.** Рекомбинантные технологии в производстве иммунобиологических препаратов для профилактики и терапии вирусных инфекций животных / П. А. Красочко, П. П. Красочко, В. А. Прокулевич, А. И. Зинченко. – Текст : непосредственный // Аграрное образование и наука для агропромышленного комплекса: материалы Республиканской научно-практической конференции. Белорусская агропромышленная неделя БЕЛАГРО-2023, Горки, 08 июня 2023 года / Белорусская государственная сельскохозяйственная академия и др. – Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2023. – С. 22-26. – EDN LWGWGJ.

13. 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») – Текст : электронный // Техэксперт : офиц. сайт. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200104835> (дата обращения: 06.02.2024).